



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**HIZLI TEST İLE COVID-19 POZİTİFLİĞİ TESPİT EDİLEN
HASTALARIN ELISA YÖNTEMİ İLE IgG VE IgM
SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Sinan KOPTAŞ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Yunus BULUT

TOKAT- 2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yunus BULUT'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Sayın Prof. Dr. Gülgün YENİŞEHİRLİ ve Sayın Doç.Dr. Umut Safiye ŞAY COŞKUN hocalarıma,

Çalışmalarım boyunca bana destek ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ ve Dr. Aytekin FIRTINA'ya, Mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarından Abdullah YAYLI'ya ve tüm Merkez Laboratuvarı mesai arkadaşlarıma,

Varlığı ile bana güç veren, dualarını eksik etmeyen maddi ve manevi desteğini esirgemeyen canım annem Nevim KOPTAŞ'a, bugünlerimi göremeyen ancak bilgi, birikim, tecrübe ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim rahmetli babam Burhan KOPTAŞ'a,

Çalışmalarım boyunca yardım, destek ve anlayışıyla her zaman yanımda olan kıymetli eşim Şeyma KOPTAŞ'a,

Çalışmalarım sırasında yanında olamadığım evimizin bereketi Emir Asaf KOPTAŞ'a ve gelmesini beklediğimiz ikinci yavrumuz Ahmet Duha KOPTAŞ'a

Sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

HIZLI TEST İLE COVID-19 POZİTİFLİĞİ TESPİT EDİLEN HASTALARIN ELİSA YÖNTEMİ İLE İgG VE İgM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Sinan KOPTAŞ

Yüksek Lisans, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yunus BULUT

Temmuz 2022 xv + 46 sayfa

İlk olarak Çin'in Wuhan şehrinde, daha sonra dünyanın her tarafında nedeni bilinmeyen öldürücü pnömoni vakalarının görülmesi üzerine etken patojen araştırılmaya başlandı. Araştırmalar sonucunda etkenin virüs olduğu saptandı. Bu virüse Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi tarafından SARS-CoV -2, yaptığı hastalığı da Covid-19 olarak tanımladı (Cascella, M. ve ark. 2020). Dünya genelinde hızlı bir yayılma göstermesi nedeniyle DSÖ tarafından pandemi ilan edilmiştir. En etkin bulaş solunum yoludur. Özellikle asemptomatik kişilerde önlem alınamadığı için daha fazla karşımıza çıkmaktadır. Bulaşın engellenmesinde temizlik, sosyal mesafeyi koruma ve izolasyon faydalı olmasına karşın, aktif immünizasyonun pandeminin engellenmesinde önemli olacağı kesindir. Hastalığı geçiren kişilerde immünizasyon gelişmesinin yanı sıra hasta kaybı da önemli sayıdadır. İnsan kaybının en aza indirilmesi ve pandeminin önlenmesinde aşı uygulamaları hayati önem taşımaktadır. Çalışmada Covid-19 ön tanısı alan 1065 kişinin immunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 antikorlarına bakıldı. %11,5 pozitiflik saptandı. Pozitif saptananların %71'i (İgM, İgM+İgG) akut enfeksiyonu gösterirken, %19'u (İgG) geçirmiş enfeksiyonu göstermektedir (Tablo 1). Ayrıca Covid-19 hastalığı geçiren (PCR+) bireylerin antikor varlığı Covid-19 (SARS - CoV-2) Antikor test (Colloidal), Elecsys Anti-SARS-CoV-2 test ve SARS-CoV-2 İgG II Quant test ile değerlendirildi. En fazla SARS-CoV-2 İgG II Quant test ile tespit edilirken, en az da Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor test (Colloidal) ile saptandı. (Tablo 2). Covid-19 hastalığı geçirmemiş (PCR-) kişilere yapılan aşılamanın (birinci grup üç sinovac aşı/ ikinci grup iki sinovac aşı ve bir biontec aşı) sonucunda gelişen immün yanıt SARS-CoV-2 İgG II Quant Test (Abbott-İrlanda) kullanılarak değerlendirildi. Birinci grupta 50 kişi/ikinci grupta 32 kişi değerlendirildi. İlk gruba uygulanan birinci, ikinci ve üçüncü

sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titreleri karşılaştırıldı (Şekil 5). Bu karşılaştırmalar sonucunda ikinci aşı sonrası saptanan titre birinci ile (Şekil 7), üçüncü aşı sonrası saptanan titre ikinci ile (Şekil 8) anlamlı seviyede artış göstermekteydi $P < 0,0001$. İkinci gruba uygulanan birinci sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titresini, ikinci sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titresini ve üçüncü BioNTech aşı (hatırlatma dozu) sonrası ölçülen IgG titresini ile karşılaştırıldı (Şekil 6). Sonuçta ikinci aşı sonrası saptanan titre artışı ile birinci aşı sonrası saptanan titre artışı, üçüncü aşı sonrası saptanan titre artışı ile ikinci aşı sonrası saptanan titre artışı anlamlı seviyede artış göstermektedir $P < 0,0001$ (Şekil 6). Burada üçüncü hatırlatma dozu olarak uygulanan BioNTech aşı sonrası saptanan antikor titre artışı birinci grupta Sinovac aşı hatırlatma dozunda saptanan titre artışından daha fazla idi. Sonuçta elde edilen IgG seviyeleri toplumun immün düzeyini ortaya koyarken, aşı çalışmalarının değerlendirilmesine de katkı sağlamaktadır. Ayrıca nötralizan immün globülin içeren plazma vericilerinin tespitine yardımcı olmasının yanısıra PCR negatif şüpheli vakalarda tanının desteklenmesinde kullanılabilir (Andersen KG, ark. 2020. Aziz M, ve ark. 2020. Zhu N, ve ark. 2020.).

Anahtar kelimeler: Covid-19, ELISA, IgM, IgG

ABSTRACT**EVALUATION OF IgG AND IgM RESULTS BY ELISA METHOD OF PATIENTS WITH POSITIVE COVID-19 DETECTED BY RAPID TEST**

Sinan KOPTAŞ

Master's Thesis, Department of Medical Microbiology

Advisor: Prof. Dr. Yunus BULUT

July 2022 xv + 46 pages

The causative pathogen was started to be investigated after the first cases of lethal pneumonia of unknown cause were seen in Wuhan city of China, then all over the world. As a result of the research, it was determined that the factor was a virus. This virus was named SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) due to its similarity to SARS-CoV by the International Virus Taxonomy Committee (Casella, M. and fri. 2020). The World Health Organization (WHO) determined the virus as SARS-CoV -2 and the disease it caused as Covid-19 on January 7, 2020. Due to its rapid spread worldwide, it has been declared a pandemic by WHO. The most effective transmission is respiratory tract. It is more common, especially in asymptomatic people, since no precautions can be taken. Although cleanliness, social distance and isolation are beneficial in preventing transmission, it is certain that active immunization will be important in preventing the pandemic. The duration of immunity developed in patients who have recovered from the disease or in the case of vaccination and its protection against subsequent infections are not yet known. In addition to the development of immunization in people who have had the disease, the loss of patients is also significant. Vaccine applications are vital in minimizing human loss and preventing pandemics. In the study, SARS-CoV-2 antibodies of 1065 people who were diagnosed with Covid-19

were examined by immunochromatographic method. 11.5% positivity was detected. While 71% (IgM, IgM+IgG) of those who were found positive showed acute infection, 19% (IgG) showed previous infection (Table 1). In addition, the presence of antibodies in individuals with Covid-19 disease (Real-Time Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction; = RT-PCR positive) Covid-19 (SARS - CoV-2) Antibody test (Colloidal), Elecsys Anti-SARS-CoV-2 test and the SARS-CoV-2 IgG II Quant test. The most SARS-CoV-2 was detected with the IgG II Quant test, and the least with the Covid-19 (SARS-CoV-2) Antibody test (Colloidal). (Table 2). Immune response as a result of vaccination (three sinovac vaccines in the first group / two sinovac vaccines and one biontec vaccine in the second group) in people who have not had Covid-19 disease (RT-PCR negative) using the SARS-CoV-2 IgG II Quant Test (Abbott-Ireland) evaluated. 50 people in the first group/32 people in the second group took part in the evaluation. The IgG titers measured after the first, second and third sinovac vaccine administered to the first group were compared (Figure 5). As a result of these comparisons, there was a significant increase between the titer detected after the second vaccination with the first (Figure 7.), the titer detected after the third vaccination with the second (Figure 8.), and the titers detected in all three vaccines $P < 0.0001$. The IgG titer measured after the first sinovac vaccine administered to the second group, the IgG titer measured after the second sinovac vaccine and the IgG titer measured after the third BioNTech vaccine (reminder dose) were compared. (Figure 6). As a result, the titer increase detected after the second vaccination and the titer increase detected after the first vaccination, the titer increase detected after the third vaccination and the titer increase detected after the second vaccination show a significant increase $P < 0.0001$ (Figure 6). The antibody titer increase detected after the bioNTech vaccine administered as the third reminder dose was higher

than the titer increase detected in the sinovac vaccine reminder dose in the first group. Although the data obtained from this study contribute to the humoral immune response of having the disease and being vaccinated, it has also been determined that the immune response decreases with age. As a result, antibody tests can be used to determine the immunity levels in the population in seroepidemiological studies, to evaluate the immune response during vaccine development studies, to determine the antibody level in immune plasma donors, and to support the diagnosis in suspected PCR negative cases (Andersen KG, and fri. 2020. Aziz M, and fri. 2020. Zhu N, and fri. 2020.)

Keywords: Covid-19, ELISA, IgM, IgG

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTARCT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İnsan Koronavirüsleri.....	7
2.2. Epidemiyolojisi.....	7
2.3. Patogenez.....	10
2.3.1. Virüs Ve Konakçı İlişkisi.....	10
2.3.2. İmmünopatoloji.....	11
2.4. Bulaşma Yolları.....	15
2.5. Bulaştırıcılık.....	17
2.6. Hastalık Belirtileri.....	18
2.7. Klinik Örneklerin Alınması ve Taşınması.....	18
2.8. Tanı Testleri.....	19
2.8.1. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT).....	20
2.8.2. Sekans Analizi.....	22
2.8.3. Antijen Testleri.....	22

2.8.4. Antikor Testleri.....	22
2.9. SARS-CoV-2'ye Karşı Bağışıklık Yanıtı.....	24
2.10. Covid-19 Aşıları.....	24
2.11. İstatistik Değerlendirme.....	25
3. MATERYAL METOD.....	25
3.1. Hızlı Tanı Testi İle Antikor Tespiti.....	25
3.2. Aşılamalar Sonucu Oluşan İmmün Yanıtın ELISA İle Tanımlanması.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	34
KAYNAKLAR.....	35

TABLULAR LİSTESİ

- Tablo 1:** Covid-19 şüpheli (n=1065) hastaların Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor testi(Colloidal) ile antikor varlığının değerlendirilmesi.....27
- Tablo 2:** Covid-19 hastalığı geçiren(PCR pozitif n=50) bireylerde yaklaşık 28 gün sonraki antikor varlığının üç farklı test ile değerlendirilmesi.....28



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Nidovirales takımının taksonomisi.....	3
Şekil 2: SARS-CoV-2 virüsünün şematik yapısı.....	4
Şekil 3: Koronavirüs (SARS-CoV) genomunun yapısı.....	4
Şekil 4A: İmmunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 total antikorun pozitifliğinin gösterilmesi.....	26
Şekil 4B: İmmunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 IgM, IgG tanı testinde, IgM(-), IgG(+) antikor varlığının gösterilmesi.....	26
Şekil 5: İlk üç aşı Sinovac.....	28
Şekil 6: İlk iki aşı Sinovac, üçüncü aşı BionTech.....	29
Şekil 7: Birinci ve ikinci aşı sonrası antikor titelerinin karşılaştırılması.....	29
Şekil 8: İkinci ve üçüncü aşı sonrası antikor titelerinin karşılaştırılması.....	30
Şekil 9: Birinci, İkinci ve üçüncü Sinovac aşı sonrası antikor titrelerinin karşılaştırılması.....	30
Şekil 10: Birinci- ikinci Sinovac, üçüncü BioNTech aşı sonrası antikor titrelerinin karşılaştırılması.....	31
Şekil 11: Üç Sinovac aşı antikor titre ortalamasının yaşa göre dağılımı.....	31

KISALTMALAR LİSTESİ

CoV: Koronavirüs

SARS-CoV-2: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü-2

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

IgM: İmmünglobülin M

IgG: İmmünglobülin G

IgA: İmmünglobülin A

PCR: Polymerase Chain Reaction “Polimeraz Zincir Reaksiyonu”

ARDS: Akut Respiratuar Distress Sendromu

VLP: Virüs benzeri parçacıklar

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

m RNA: Mesajcı Ribonükleik asit

kb: kilobaz

N: Nükleokapsid

M: Transmembran

E: Zarf

S: Spike

ORF: Open Reading Frames

HE: Hemaglütinin Esteraz

IFN- β : İnterferon β

HCoV: İnsan Koronavirüsleri

MERS-CoV: Middle East Respiratory Syndrome-related coronavirus “Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü”

SARS-CoV: Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus “Şiddetli akut solunum yolu sendromu”

nCoV: Yeni Koronavirüs

HCoV-229E: Human Coronavirus-229E

HCoV-OC43: Human Coronavirus-OC43

HCoV-NL63: Human Coronavirus-NL63

R0: Bulaştırıcılık Katsayısı

μ m: Mikrometre

RT-PCR: Real Time Polymerase Chain Reaction “Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu”

BSL: Biyogüvenlik Seviyesi

cDNA: Komplementer DNA

Ct: Cycle Threshold

RNase P: Ribonükleaz P

RT-LAMP: Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification

CRISPR: Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats

Lateral Flow İmmunoassay: Lateral Akım Yöntemleri

FDA:U.S. Food and Drug Administration

RBD: Receptor Binding Domain “reseptöre bağlanan alan”

ACE: Angiotensin converting enzyme

CLIA: Kemilüminesans İmmünoassay

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

kDa: Kilo Dalton

NSP: yapısal olmayan proteinler

TLRs: toll-like receptors

VSV: Veziküler Stomatit Virüsü

RBB: Reseptör Bağlanma Bölgesi

DH: Dentritik Hücre

ASH:Antikor Sunan Hücreler

RIG: Retinoik asite bağlı gen

MDA: Melanom farklılaşması ile ilişkin protein

HLA: Human Lökosit Antijen

TMPRSS 2: Transmembran proteaz serin 2

ADE: Antibody-dependent enhancement – antikor bağımlı güçlendirme

GİS: Gastrointestinal Sistem

Ankara-MVA: modifiye vaksinya virüs



1. GİRİŞ

2019 yılında Çin'in Wuhan şehrinde etkeni tanımlanamayan pnömoni vakalarının artması üzerine yapılan çalışmaların sonucunda 7 Ocak 2020 yılında bu pnömonilerin daha önce insanda görülmemeyen yeni tip bir Coronavirus (SARS-CoV-2) nedeniyle olduğu saptandı. Yaptığı hastalık 2019-nCoV veya Covid-19 olarak tanımlanmıştır (Anonim 2020). Virüs tek iplikçikli pozitif polariteli, segmentsiz, zarflı, sferik veya pleomorfik şekilli 60-140 nm çapında RNA virüsüdür.

Virüs solunum yolu mukozalarına afinite gösterir. Hapşırma ve öksürme ile ortalığa saçılan damlacıkların özellikle solunum yolu ile insanlara bulaşabilmektedir. Hastalık ateş, nefes darlığı halsizlik şeklinde başlar daha sonra öksürük burun tıkanıklığı baş-boğaz ağrısı tabloya eklenir. İleri safhada ağır solunum sıkıntısı (ARDS), ve septik şok ile sonuçlanır (Guan W-j, ve ark. 2020). Hastalık başladıktan bir hafta sonra akciğer dışı yapıların etkilenmesi sonucu kalp, karaciğer, böbrek sindirim sistemi koku, göz ve hematolojik belirtilerle de karşımıza çıkabilir. İleri yaş ve kronik rahatsızlığı olanlarda bu tablolar daha ağırlaşabilmektedir (Anonim 2020). Kanser hastaların, immüsupressif tedavi alan hastaların ve gebelerin de yüksek riske sahip oldukları düşünülmektedir (Wang B, ve ark. 2020).

Hastane yatışları ve mortalitenin büyük bir kısmı akciğer tutulumu ve buna bağlı gelişen solunum yetmezliği nedeniyledir (Ruan Q, ve ark. 2020).

Türkiyede ilk SARS-CoV-2 hasta 11 Mart 2020 tarihinde tanımlanmıştır (Anonim 2020). Bulaşın engellenmesinde en geçerli tedbirin temizlik, mesafe ve izolasyon olmasının yanında bilindiği gibi pandeminin engellenmesinde de en önemli aracın güvenli ve etkili aşı uygulamasıdır.

11 Ocak 2020'de yayınlanan SARS-CoV-2'nin ilk genom dizisi hastalığa karşı çeşitli aşı adaylarının geliştirilmesindeki çalışmaları hızlandırmıştır. Canlı zayıflatılmış aşılar, protein alt birim aşıları, virüs benzeri parçacıklar (VLP), DNA aşıları, mRNA aşıları ve tam inaktive aşıları içeren türler geliştirilmiştir.

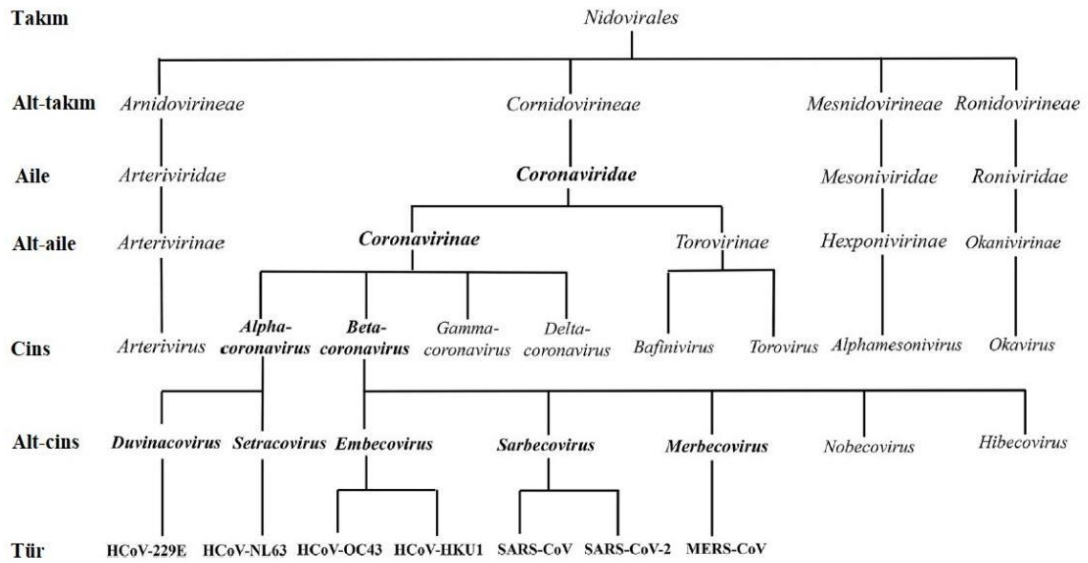
İnaktive aşılardan avantajı sadece SARS-CoV-2'nin spike proteinini (S) değil, aynı zamanda diğer viral proteinleri de matris (M), zarf (E) ve nükleokapsidi de (N) hedef almasıdır.

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen Covid-19 şüpheli hasta serumlarında Covid-19 IgM ve IgG varlığının araştırılması yanında, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Aşı Ünitesinde Covid-19 hastalığı geçirmemiş (PCR-) kişilere yapılan Sinovac ve BioNTech aşı uygulamaları sonucu gelişen immün yanıtın değerlendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Koronavirüsler, *Nidovirales* takımı içinde yer alan, *Coronaviridae* ailesinde yer almaktadır. Dört cins koronavirüs tanımlanmıştır (alfa, beta, gamma ve delta koronavirüs).

Bu virüs; beta koronavirüsün *sarbecovirus* alt cinsinde yer alır (Memikoğlu O, Genç V. 2020).



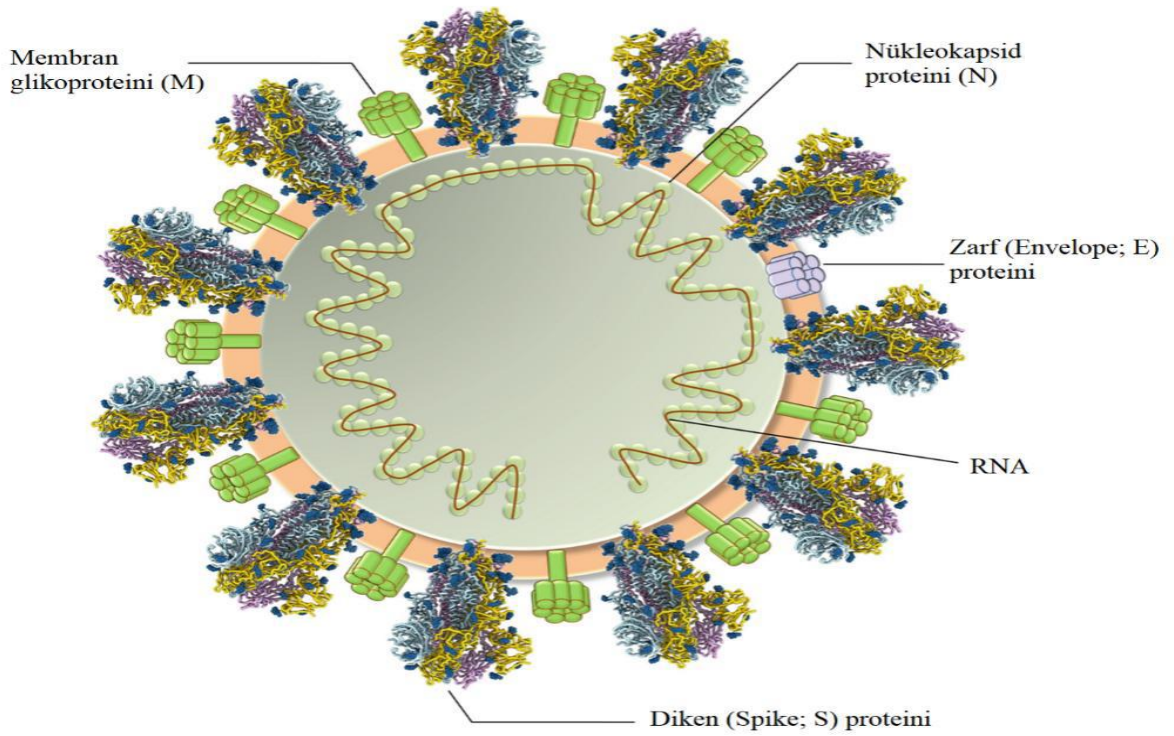
Şekil 1. Nidovirales takımının taksonomisi (Zhao X, ve ark. 2020)

En büyük genoma sahip tek zincir RNA virüsüdür. Bu virüs, pozitif polariteli, segmentsiz, zarflı, pleomorfiktir. (Sonmezer MC, İnkaya AÇ. 2020).

Dört yapısal protein içermektedir. Bunlar nükleokapsid (N) proteini, transmembran (M) proteini, zarf (E) proteini ve spike (S) proteindir.

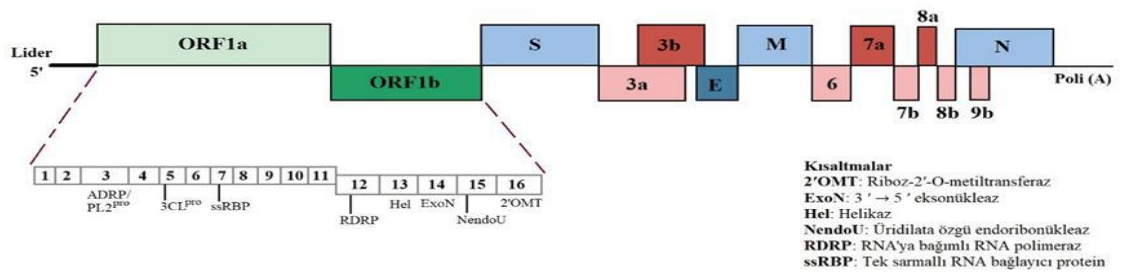
S protein glikoprotein yapıda olup reseptör bağlanması ve membran füzyonunu sağlar (Hogue, B. G., & Machamer, C. E. 2007).

RNA virüslerinde olduğu gibi replikasyonunu solunum sistemi ve sindirim sistemi epitel hücrelerinin sitoplazmasında gerçekleştirir. (Memikoğlu O, Genç V. 2020).



Şekil 2. SARS-CoV-2 virüsünün şematik yapısı (Kumar S, ve ark. 2020)

Virüs RNA'sının açık okuma bölgesi ORF1a ve ORF1b'den 16 adet yapısal olmayan protein kodlanır. Genomun diğer ORF bölgelerinden ise yapısal proteinler kodlanır. Bunlar HE (Hemaglütinin esteraz) proteini, 3a/b proteini, 4a/b gibi yapısal ve aksesuar proteinlerdir (Memikoğlu O, Genç V. 2020).



Şekil 3. Koronavirüs (SARS-CoV) genomunun yapısı (Perlman S, Netland

J. 2009)

Yapısal proteinler koronavirüsün önemli işlevlerini görür. S glikoproteini, hedef hücreye bağlanmada, M proteini toparlanmada, E proteini ise salınmada görev alır. N proteini ise paketlenme ve hücre içi savunma sistemlerine karşı virüsün korunmasından sorumludur (Sonmezer MC, İnkaya AÇ. 2020). Koronavirüslerin birçoğu infeksiyöz bir virion oluşturmak için bu dört proteine birden ihtiyaç duyarlar. Ancak, bazı CoV'lerin infeksiyöz bir virion oluşturmak için yapısal proteinlerin tümüne ihtiyaç duymadığı, bu da bazı yapısal proteinlerin vazgeçilebilir olabileceğini veya bu CoV'lerin telafi edici fonksiyonlara sahip ek proteinleri kodlayabileceğini düşündürmektedir (Schoeman D, Fielding BC. 2019).

Virüs yüzeyindeki S glikoproteini konak hücrenin reseptörüne bağlanıp, membran füzyonu ile konak hücreye tutunmayı sağlamaktadır. Konak hücre tropizmini belirleyen en önemli viral proteindir. S glikoproteini, S1 ve S2 ilmekleri içerir. Temel olarak S1 ilmeği konak hücre reseptörüne bağlanmadan sorumluyken, S2 ilmeği ise membranların füzyonundan sorumludur (Memikoğlu O, Genç V. 2020, Sonmezer MC, İnkaya AÇ. 2020).

Virüs yapısında en fazla bulunan bileşen M proteindir. N proteini ile birlikte virüs oluşumu, salınımı ve viral hücre içi dengesinin sağlanmasında önemli rolü olan zarf proteindir. Tam virüs partikülü şekillendirmek ve nükleokapsite bağlanmak görevlerini yerine getirir. Ayrıca nükleokapsit proteininin stabilizasyonunu da sağlar. Böylece nükleokapsit-RNA kompleksinin oluşumu ve devamlılığı sağlanır. Konak hücrenin virüs tarafından duyarlı hale gelmesinde bu protein önemlidir, toll-like reseptör bağımlı mekanizma ile interferon β (IFN- β) yolağının aktive edilmesini sağlar (Memikoğlu O, Genç V. 2020).

Nükleokapsidi oluşturan zarf proteini N proteinidir ve CoV ailesinin tüm üyelerinde yapısı benzerdir. M proteini ile birlikte virüs oluşumu ve salımında rol alır. N proteini viral genomu farklı mekanizmalarla bağlayabilen iki alan içerir. Viral RNA'nın çoğalmasında rol oynarken, diğer taraftan interferon antagonisti olarak da davranır. Böylece virüsün immün sistem tarafından yok edilmesi önlenmiş olur (Memikoğlu O, Genç V. 2020).

İnsanları enfekte ederek çeşitli derecelerde solunum yolu hastalıklarına neden olabilen altı koronavirüs türü tanımlanmıştır. En sık görülen suşlar, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 ve HCoVHKU1'dir (Su, S. ve ark. 2016). Diğer iki suş MERS-CoV ve SARS-CoV'dir (Fung, T. S.,& Liu, D. X. 2019). SARS-CoV ve MERS-CoV gibi zoonotik HCoV'ler, büyük ihtimalle yarasal koronavirüslerinin rekombinasyonları ve sıralı mutasyonları aracılığıyla yarasalarda ortaya çıkmış, ara konakçılara yayılma sırasında mutasyonlara uğrayarak sonunda insana bulaşma yeteneği kazanmıştır (Cui, J. ve ark. 2019). Çinde 2002-2003 yıllarında SARS-CoV 2012 yılında Orta Doğu ve Suudi Arabistan'da MERS-CoV'in neden olduğu şiddetli akut solunum yetmezliği salgınları görülmüştür (Zhong, N. S. ve ark. 2003, Zaki, A. M. ve ark. 2012).

İnsanlarda hastalığa neden olan altı koronavirüs türüne ek olarak 2019 yılında Covid-19 hastalığının etkeni olarak ortaya çıkan ve pandemiye neden olan HCoV türü 2019-nCoV (yeni koronavirüs) olarak isimlendirilmiştir. Bu virüse SARS-CoV-2 (şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2) ismi verilmiştir (Casella, M. ve ark. 2020). Tek iplikli RNA genomları, 9.860 aminoasiti kodlayabilecek 29.891 nükleotit içerir. Yapılan genomik incelemeler bu virüsün yarasalarda bulunan bir virüs türünden evrimleştiğine işaret etmektedir. Yaklaşık 60-140 nm çapa sahip olan bu zarflı virüsler ısıya ve ultraviyole ışınlarına duyarlıdır. Virüs 27°C'de inaktive olabilirken, 0°C'nin

altında canlı kalabilmektedirler. SARS-CoV-2 virüsü çeşitli dezenfektanlara (eter, etanol, kloriçeren dezenfektan, peroksiasetik asit ve kloroform) duyarlı iken klorheksidin'e dirençlidirler (Casella, M. ve ark. 2020).

Son 20 yılda başrollerini SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2'nin oynadığı üç büyük koronavirüs kaynaklı salgın yaşanmıştır. 21.yüzyıla damgasını vuran Covid-19 salgını, halen tam olarak kontrol altına alınamamıştır.

2.1. İnsan Koronavirüsleri

İnsanda ateş, baş ağrısı, tonsillit, nezle, pnömoni ve bronşite varan tablolara neden olabilirler (Anonim 2020). Bu virüsler;

- a) İnsan koronavirüs-229E(HCoV-229E)
- b) İnsan koronavirüs-OC43(HCoV-OC43)
- c) İnsankoronavirüs-NL63(HCoV-NL63, Haven koronavirüs)
- d) İnsan koronavirüs-HKU1
- e) Orta Doğu solunum sendromu ile ilişkili koronavirüs; (MERS-CoV)
- f).Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs; (SARS)
- f.1.Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs: (SARS-CoV)
- f.2.Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs -2: (SARS-CoV-2)

a,b,c,d, virüsler çocuklarda ve yetişkinlerde üst ve alt solunum yolu infeksiyonlarına neden olabilmektedirler. (Ai T, ve ark. 2020).

2.2 Epidemiyolojisi

2019 yılı aralık ayında Wuhan kentinde nedeni bilinmeyen öldürücü zatürre vakalarının tespit edilmesi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda etken DSÖ tarafından 7

Ocak 2020 tarihinde korona ailesinin yeni bir virüsü olarak tanımlanmıştır. 12 Ocak'ta virüse 2019-nCoV, yaptığı hastalığa da 11 Şubat'ta Covid-19 ismi verildi.

Dünya sağlık örgütü (DSÖ), 20 Ocak'ta virüsün insandan insana bulaştığını duyururken, 30 Ocak'ta küresel acil durum ilan edildi. Pandemiye dünyaya ilan eden ilk kişi Dr. Li Wenliang oldu. Daha sonra Dr. Li Wenliang bu salgın hastalığa yakalanarak hayatını kaybetti.

Virüsün SARS- CoV'e benzemesinden dolayı 14 Şubat'ta SARS-CoV-2 olarak isimlendirildi.

Türkiye'de ilk vakaya 11 Mart 2020 tarihinde rastlanırken ilk ölüm vakası da 17 Mart 2020 tarihinde açıklandı (Şeker, M. ve ark. 2020).

Araştırmalar SARS-CoV-2'nin kökeninin yarası koronavirüsleri olabileceğini öne sürmüştür. Örneğin bir yarası koronavirüsü olan BetaCoV/RaTG13/2013 ile SARS-CoV-2 ile %96 oranında nükleotid özdeşliğine sahip olduğunu göstermiştir (Zhou P, ve ark. 2020).

Covid-19 enfeksiyonu olan bir kişiden hastalığın bulaşmanın derecesi etkileşimin süresine ve bireysel koruyucu tedbirlerin alınmasına bağlı olarak değişir (Ghinai I, ve ark. 2020). Covid-19 hastaları tarafından, hava yolundan damlacık şeklinde veya çevresel kontaminasyon oluşabilir. Çevre, potansiyel bir bulaşma aracıdır. Fekal bulaşım da olası olduğu düşünülmektedir (D'Amico F, ve ark. 2020, Fabricant J.1998).

İnkübasyon süresi yaklaşık 5 gündür (Guan W-j, ve ark. 2020, Li Q, ve ark. 2020). Tanı konulmamış inkübasyon safhasındaki taşıyıcılarla temas edenlere SARS-CoV-2'nin bulaşması daha fazla gerçekleşir (Guan W-j, ve ark. 2020).

Li Q, ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada bulaştırıcılık katsayısını (R0) 2.2 olarak tespit etmişler, bu da ortalama olarak her hastanın infeksiyonu 2.2 kişiye yaydığı anlamına gelmektedir (Li Q, ve ark 2020).

Ölüm oranı % 2,3 olarak tahmin edilmektedir (Verity R, ve ark. 2020). J H Üniversitesinde yapılan araştırmalarda Nisan 2020 itibarıyla küresel ölüm oranı % 7,0 olarak tespit edilirken (University JH. 2020), DSÖ raporuna göre ise Nisan 2020 itibarıyla genel vaka mortalite oranı 6,3 olarak saptandı (Anonim, 2020).

Yaşlı nüfusun olduğu ülkelerde ölüm oranının yüksektir. İtalya'da, hastaların ortalama yaşı 62 iken Covid-19'dan ölenlerin ortalama yaşı ise 78 olarak bulunmuştur (Anonim, 2020). Covid-19 mortalite oranı İtalya'da % 7,7, Kore'de %0,9 ve Almanya'da % 0,2 olarak görülmektedir (Kang Y-J. 2020, Lazzerini M, Putoto G. 2020). Türkiye'de mortalite oranı Mayıs 2020 itibarıyla Sağlık Bakanlığı tarafından %2,6 olarak bildirilmiştir (Anonim, 2021).

Yaş arttıkça hastalığın mortalitesi artmaktadır. Özellikle 80 yaş ve üzerinde mortalitenin 3 kata kadar arttığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Wu Z, McGoogan JM. 2020). İtalya'da ise ölen hastaların %83'ünün 70 yaşın üzerinde olduğu saptanmıştır (Anonim, 2020). Kore'de hastalığın tüm hastalardaki mortalite oranı %0,9 saptanmakla birlikte bu oranın 80 yaş üzerinde %9,3 olduğu görülmüştür (Kang Y-J. 2020).

Her yaş grubunda Covid-19 hastalığı bildirilmesine rağmen, ileri yaştaki hastalar infeksiyona daha duyarlı görünmektedir. Bir raporda, en çok etkilenen yaş grubunun orta yaş olduğunu gösteriyor. Çocuklar ve genç yetişkinler arasında infeksiyon oranları çok düşük olup %0,8-4,0 arasında değişmektedir. Ayrıca bu yaşlarda asemptomatik infeksiyon oranı oldukça yüksektir (Bulut C, Kato Y. 2020).

Wuhan’da yapılan bir çalışmada hastalığa yakalananların ortalama yaşı 56 (18-87) idi (Zhou F, ve ark. 2020). Çin’de 44.500 Covid-19 hastası içeren bir çalışmada, hastaların % 87’si 30 ila 79 yaşları arasındaydı (Wu Z, McGoogan JM. 2020). Li ve ark.’nın 425 hastada yaptığı çalışmada 15 yaş altı hasta bulunmuyordu. Hastaların % 56’sı erkek ve çoğunluğu 45 yaş ve üzerinde bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda da hastalığın ileri yaşlarda ve erkek hastalarda daha ağır seyrettiği gözlemlenmiştir (Li Q, ve ark. 2020).

2.3. Patogenez

2.3.1. Virüs ve Konakçı İlişkisi

Koronavirüslerin yaşam döngüsü bağlanma, penetrasyon, biyosentez, olgunlaşma ve salıverme olarak 5 adımda gerçekleşir. S glikoproteininin yüzeyinde bulunan ve değişkenlik gösterebilen reseptör bağlanma bölgesi (RBB) koronavirüslerin konak hücreye tutunmasını sağlar (Li F. 2016). SARS-CoV-2 için, S glikoproteininin hedefi anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) reseptörüdür (Chen Y, ve ark. 2020, Shereen MA ve ark. 2020). S glikoproteini, S1 ve S2 alt birimlerinden oluşan bir transmembran trimerik glikoproteinden oluşur. S1 alt birimi konakçı hücre reseptörüne bağlanmadan sorumlu iken, S2 alt birimi viral ve hücre zarlarının füzyonunu sağlar (Chen Y, ve ark. 2020). S1 glikoproteini, ACE-2 reseptörüne sıkıca bağlanır ve virüs konakçı hücreye girer (Yuki K, ve ark. 2020). Viral RNA, pozitif polariteye sahip olması nedeni ile konak genomuna entegre olmadan şablon görevi görerek gerekli enzim ve proteinleri kodlar. Bunu takiben viral partiküller içeren veziküllerin plazma membranı ile füzyonu sonucunda virüs ortama salınır. Virüsün tüm replikasyon döngüsü konakçı hücrenin sitoplazmasında gerçekleşir (Chen Y, ve ark. 2020, Shereen MA ve ark. 2020, Belouzard

S, ve ark. 2009). Alveolar boşlukta bulunan akciğer epitel hücrelerinin apikal tarafında ACE-2 reseptörleri yüksek oranda eksprese edilir. Virüs konakçının ACE-2 reseptörleri aracılığı ile distal hava yollarındaki bu hücrelere girip erken dönemde akciğer hasarına neden olabilir (Jia HP, ve ark. 2005). Koronavirüslere karşı T hücre aracılı yanıtlar dentritik hücreler (DH) ve makrofajların antijen sunumuyla başlatılır. Virüsle enfekte olmuş apoptotik epitel hücrelerinin DH'ler ve makrofajlar tarafından fagosite edilmesi, T hücrelerine antijen sunumu sürecini başlatır (Fujimoto I, ve ark. 2000). Dentritik (dalak) hücreler ve alveolar makrofajlardaki ACE-2 ekspresyonu sınırlıdır. SARS-CoV-2 antijen sunan hücrelere (ASH) bağlanmak için, ACE-2'ye ek olarak dentritik hücreler ve makrofajlar üzerinde yüksek oranda eksprese edilen çeşitli proteinlere (DC-SIGN, DC-SIGNR, L-SIGN) bağlanabilirler (Marzi A, ve ark. 2004). Antijen sunan hücreler, viral antijenleri T hücrelerine lenf düğümlerinde sunar. Burada CD4+ (Telper) hücreleri, B lenfositlerin immünglobulin üretimini kolaylaştırırken, CD8+ (T-sitotoksik) hücrelerinin enfekte konak hücrelerinin öldürülmesini sağlar (Yuki K, ve ark. 2020).

2.3.2. İmmünopatoloji

Viral infeksiyon hastalığın şiddetini belirleyen tek faktör değildir. Konakçı yanıtı da hastalık şiddetini belirleyen faktörlerden biridir. İnflamatuvar yanıtın agresif olması hava yollarında oluşan hasarın artmasını neden olur (Tay MZ, ve ark. 2020). Covid-19'un ilk basamağı, SARS-CoV-2'nin konakçı hücreye ACE-2 reseptörü aracılığı ile bağlanmasıdır. ACE-2 reseptörünü eksprese eden tüm hücreler SARS-CoV-2'nin hedefidir (Hamming I, ve ark. 2004). SARS-CoV'da akciğer hücrelerindeki ACE-2 reseptörüne bağlanıp ekspresyonunu azaltır. Akut akciğer hasarı ile pulmoner ACE-2'deki fonksiyon kaybı ilişkili olduğundan, renin-anjiyotensin sistemini düzenleyen ACE-

2'nin hastalık patolojisi için önemli olduğu varsayılmaktadır. Bu nedenle, viral enfeksiyondan sonraki ACE-2 işlevinin azalması, kan basıncını ve sıvı/elektrolit dengesini etkileyen ve hava yollarındaki inflamasyon ve vasküler geçirgenliği artıran endotelitis, piropitozis, iskemi, ödem hiperkoagülopati ve benzeri birçok duruma neden olabilir (Ruan Q, ve ark. 2020, Zhou F, ve ark. 2020). ACE-2 reseptörleri farklı düzeylerde vücudun neredeyse tüm organlarında eksprese edilir. Hastaların bazılarında görülen kardiyovasküler komplikasyonlar vasküler endoteldeki ve kardiyak hücrelerdeki ACE-2 ekspresyonu ile açıklanabilir. Monositler ve makrofajlar üzerinde daha düşük seviyelerde olsa da ACE-2 eksprese edilir, böylece SARS-CoV'un bu hücreleri enfekte ettiği gözlenmiştir. SARS-CoV-2 T hücrelerinin CD147 reseptörüne bağlanıp endozom ile hücre içine alınır (Varga Z, ve ark. 2020, Imai Y, ve ark. 2005). Sitoplazmik RNA reseptörlerinden Toll-like reseptörler (TLR) 3 ve 7 aktivasyonu genellikle transkripsiyon faktörler NF- κ B ve IRF3'ün nükleer translokasyonu ile sonuçlanır. Retinoik aside bağlı gen I (RIG-I) ve melanom farklılaşması ile ilişkili protein 5 (MDA5) aktivasyonu ise IRF3 aktivasyonu ile sonuçlanır. Böylece NF κ B aktivasyonu ile IL-1, IL-6, TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin, IRF3 yoluyla da tip I interferonların ekspresyonu artar (Felsenstein S, ve ark. 2020). SARS-CoV-2 sitopatik bir virüstür. Bu nedenle enfekte ettikleri hücrelerin inflamatuvar apopitozisine (piroptozis) neden olabilirler (Tay MZ, ve ark. 2020). IL-1 β piroptozis sırasında salınan önemli bir sitokindir ve SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında yükselir. Hastalarda IL-6, IFN- γ , MCP-1 ve IP-10'un salınımının artışı yerel bir inflamasyon dalgası oluşturur (Ulrich H, Pillat MM. 2020). Adaptif bağışıklık hücreleri, doğal bağışıklığın aktivasyonu ve pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun bir sonucu olarak, viral enfeksiyonlara karşı konağın savunmasına katılır (Felsenstein S, ve ark. 2020). Dokulardaki makrofajlar viral peptitleri fagosite edip, Tc

ya da Th hücrelerine HLA I ve II molekülleri aracılığı ile sunarlar. T hücreleri tarafından antijenik molekülün tanınması sürecinde antijen sunan hücrelerin yanısıra antijeni algılayan hücreler arasındaki teması sağlayan ko-stimulatör moleküllerin de ayrıca önemi vardır. ASH'ler bu süreçte bazı sitokinleri, kemokinleri salgılar. Salgılanan bu sitokinler ve kemokinler, bölgeye, T lenfosit ve monositleri çeker. Bağışıklık hücrelerinin bu süreçte akciğere alınması ve hava yollarının lenfositlerce infiltrasyonu, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda gözlenen lenfopeniyi ve artmış nötrofil-lenfosit oranını açıklayabilir. T ve B hücrelerinin SARS-CoV-2'ye karşı yanıtları semptomların başlangıcından yaklaşık 1 hafta içinde serumda saptanır. Tc hücreleri, virüs ile enfekte hücrelere sitotoksik etkinlik gösterirken, Th hücreler hem Tc hem de B hücrelerin hazırlanmasına yardımcı olmak ve bağışıklık hücrelerinin alımını sağlamak için sitokin üretiminden sorumludur (Tay MZ, ve ark. 2020). Çoğu bireyde, oluşan bağışıklık yanıtı ile enfeksiyon bölgesinde bağışıklık hücrelerinin toplanması ve enfeksiyonun temizlenmesi ile hasta iyileşmesi olur. Ama hastaların bir kısmında, yaygın akciğer hasarına sebep olan sitokin fırtınasını tetikleyen işlevsiz bir bağışıklık yanıtı oluşur (Ulrich H, Pillat MM. 2020). Bu hastalarda IL-6 düzeyleri zamanla artar. Bununla birlikte ölen vakalarda IL-6 düzeyleri hayatta kalanlara göre daha yüksektir (Yi Y, ve ark. 2020).

İmmün hücreler, sitokin fırtınasına katkıda bulunan inflamatuvar sitokinleri salgılar. Yapılan araştırmalarda, interferon tepkilerinin SARS-CoV'un yapısal ve yapısal olmayan proteinleri ile antagonize edildiğini göstermektedir (Tay MZ, ve ark. 2020). SARS-CoV-2'de bu yolların bir kısmının korunması olasıdır. Antagonize edilen interferon tepkisi sonucu viral replikasyon kolaylaşır ve bu da piroptoz ürünlerinin salınımının artmasına neden olur. Salınımı artmış olan piropitoz ürünleri anormal inflamatuvar yanıtların indüklenmesine neden olabilir. Akciğerde oluşan hasarı, virüs

kaynaklı doğrudan hasara ek olarak, aşırı inflamatuvar hücre infiltrasyonu sonucu proteazların ve reaktif oksijen türlerinin aşırı salgılanması da oluşturabilir. Bu süreçler, alveolar hücrelerin deskuamasyonu, hyalin membran oluşumu ve pulmoner ödem olmak üzere yaygın alveoler hasar ile sonuçlanır (Huang C, ve ark. 2020, Xu Z, ve ark. 2020). Bu, akciğerdeki gaz değişiminin verimliliğini sınırlar, solunum sıkıntısına ve düşük kan oksijen seviyelerine neden olur. Akciğer ayrıca sekonder infeksiyonlara karşı daha savunmasız hale gelir. Lokal hasara ek olarak, sitokin fırtınasındaki, TNF gibi sitokinlerin yükselmiş seviyeleri septik şok ve çoklu organ yetmezliğine neden olabilir (Tian S, ve ark. 2020). SARS-CoV infeksiyonu olan hastalarda infeksiyonun kontrol edilmesinde esas olarak hücresel yanıt kullanılır (Shin HS, ve ark. 2019). Virüsün eliminasyonunda ve hastalık gelişiminin kontrolünde koronavirüse spesifik T hücreleri önemlidir. Covid-19 hastalarında semptomlar başladıktan yaklaşık 1 hafta sonra B hücresi tepkileri, T foliküler yardımcı hücre tepkileri ile görülür (Thevarajan I, ve ark. 2020).

SARS-CoV-2, konakçı hücrelerine ACE-2 ve TMPRSS2 yüzey reseptörleri aracılığı ile tutunup, hücre içine girer. Takip eden süreçte virüsün hücre içindeki aktif replikasyonu ve salınması konakçı hücrenin piroptozise girmesine ve hasarla ilişkili moleküler paternler (DAMP) (ATP, nükleik asitler ve ASC oligomerleri, vb. gibi) salınımına neden olur. DAMP'ler, epitel, endotel hücreleri ve alveoler makrofajlar tarafından tanınıp pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımını uyarır. (IL-6, IP-10, MIP1a ve MCP1). Bunlar monosit, makrofaj ve T hücrelerinin infeksiyon alanına çekilmesine, inflamasyonun artmasına ve böylece proinflamatuvar bir geri besleme döngüsünün oluşmasına neden olur. Proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ile seyreden, sitokin fırtınasına ilerleyip çoklu organ hasarına yol açabilen, bu disfonksiyonel bağışıklık yanıtı, akciğerlerde bağışıklık hücrelerinin daha fazla birikip, yaygın hasara

neden olabilir. Başıklık yanıtının normal olduğu durumda, infeksiyon bölgesine virüs spesifik T hücrelerinin çekilmesini sağlanır ve enfekte olan hücrelerin ortadan kaldırılması sağlanır. Bu hastalarda, nötralizan antikorlar viral infeksiyonu bloke ederken, alveolar makrofajlar virüs ve apoptotik hücreleri temizler. Akciğer az hasar ile iyileşir (Tay MZ, ve ark. 2020). Covid-19'da bir başka mekanizmada, B hücreleri tarafından üretilen nötralize edici veya non-nötralize antikorların, ADE (antibody-dependent enhancement/antikor-bağımlı güçlendirme) yoluyla SARS-CoV-2 infeksiyonunun meydana getirdiği organ hasarını daha da şiddetlendirebilir. ADE, SARS-CoV-2 infeksiyonu yanı sıra Dangué virüsleri, Zika virüsü, Ebola virüsü ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) gibi infeksiyonların seyrinde hasarın artışına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Choy EH. 2019). ADE'yi koronavirüslere karşı erken üretilen nötralizan antikorlar tetikleyebilir. Bununla birlikte, antikor afinitesi de önemli bir rol oynar (Li M, ve ark. 2018, Wan Y, ve ark. 2020,). Akciğerlerde, tipik olarak alveolar makrofajlarda yüksek seviyelerde CD32a (FcγRIIa) ekspresyonu gözlenirken, GİS'de CD32a proteini ekspresyonu gözlenmez. Bu durumun klinik yansıması ise Covid-19'da akciğerlerde ARDS gibi yaygın hasar gözlenirken, düşük bağırsak hasarının gözlenmesidir.

2.4 Bulaşma yolları

İlk Covid-19 hastalık vakası Wuhan'da bulunan deniz ürünleri satılan bir pazarda görülmesi nedeniyle virüsün insanlara hayvanlardan bulaşmış olabileceğini düşündürmüştür. Ancak yapılan araştırmalar sonucu Covid-19 yayılmasının esas olarak insandan insana bulaş şeklinde olduğu saptmıştır (Casella, M. ve ark. 2020). SARS-CoV-2 virüsünün kişiden kişiye solunum yoluyla bulaştığı bilinmektedir. Solunum yolu sekresyonları bulaşta önemli bir rol aldığı kanıtlanmıştır (Anonim 2020). Özel

görüntüleme yöntemleri ile havadaki partikül hareketlerini inceleyen bazı çalışmalar öksürme, hapşırma ve konuşma sonucu açığa çıkan damlacıkların güvenli olduğu varsayılan 2 metrelik mesafeden çok daha uzaklara yayılabildiğini göstermektedir (Guo, Z. ve ark. 2020).

Aerosoller, havada hızla çözünen ve saatlerce asılı kalabilecek kadar küçük ve hafif damlacık çekirdekleri bırakan 5 µm veya daha küçük parçacıklardır. Damlacıklar ise 5 µm'den daha büyük olup, yerçekimi etkisiyle havada kalamayarak hızla yere düşen parçacıklardır (Klompas, M., ve ark. 2020). SARS-CoV-2 ile ilgili yapılan deneysel bir çalışma virüsün laboratuvar ortamlarında 3 saat sonra bile havada asılı kalarak yaşayabildiğini göstermiştir (Van Doremalen, ve ark. 2020). Havalandırılmamış kapalı alanlarda bulunan aerosollere maruziyetin de hastalığın bulaşında diğer bir yol olduğu düşünülmektedir (Cascella, M. ve ark. 2020). Enfeksiyöz bir aerosol, hastaların kullandığı tuvaletlerde daha yoğun tespit edilirken, havalandırılmış hasta odalarında nispeten daha az seviyelerdedir. Ayrıca bu aerosoller etkili bir temizlik sonucunda tespit edilemez seviyelere düşürülmüştür. Sonuçta açık hava ve havalandırılmış odaların bulaş riskini azalttığı ve uygun dezenfeksiyon yöntemlerinin SARS-CoV-2 düzeylerini hastalık bulaştıramayacak seviyelere indirdiği anlaşılmıştır (Liu, Y. ve ark. 2020). Yapılan çalışmalar Covid-19 hastalarının solunum yolu örnekleri haricinde kan, gaita, idrar ve semende de SARS-CoV-2 virüsünün izole edilebildiğini göstermiştir. Virüs için pozitiflik oranlarının en yüksek olduğu yer ise alt solunum yolları olarak rapor edilmiştir (Colavita, F. ve ark. 2020, Li, D. ve ark. 2020). Ancak aynı hastanın çeşitli vücut sekresyonlarındaki virüs titreleri aynı olmamakla birlikte bazen farklı olabilmektedir (Cheung, K. S. ve ark. 2020). Bazı semptom vermiyen hatta iyileşmiş hastaların sekresyonlarında saptanabilen virüs, ağır hastalarda saptanamayabilir. Vücut sıvılarındaki virüsün bulaştırıcılığa hangi

oranda katkı sağladığı net olarak bilinmemektedir. Dolayısıyla bu konuda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Colavita, F. ve ark. 2020, Cheung, K. S. ve ark. 2020). SARS-CoV-2'nin nesnelere yüzeylerindeki kontaminasyonlarını araştıran bir çalışmada en fazla plastik ve paslanmaz çelik yüzeylerde virüsün canlı bulunabileceği gösterilmiştir (Casella, M. ve ark. 2020). SARS-CoV-2'li hastaların solunum sistemi sekresyonları ve dışkıları ile kontamine olan yüzeylerin, hastalığın bulaşmasında potansiyel bir risk faktörü olduğu, korunmada çevre ve el temizliğinin önemini göstermektedir (Ong, S. ve ark. 2020). Ancak her ne kadar potansiyel bir risk faktörü olsa da yayınlanan bir raporda fekal-oral bulaşın hastalık yayılımında önemli bir faktör olmadığı kabul edilmiştir (Kang, M. ve ark. 2020).

Bazı iyileşen hastaların menilerinde SARS-CoV-2 tespit edilmesine rağmen SARS-CoV-2'nin cinsel yolla bulaşıp bulaşmadığı net olarak bilinmemektedir. Ancak yine de hastalığın yayılmaması için bu ihtimal göz ardı edilmemeli, hastalar bulaştırıcılık açısından tedbirli olmalıdır. Sonuç olarak bu hastaların ne kadar süre ile cinsel ilişkiden kaçınmaları gerektiğini ve hangi korunma yönteminin bulaşmayı önleyici olabileceğini içeren çalışmalara oldukça ihtiyaç vardır (Li, D. ve ark. 2020).

Viral hastalıkların intrauterin bulaşması genellikle annenin kan dolaşımında bulunan virüsün plasentaya ulaştığı, plasenta aracılığıyla da fetal kan damarlarına girerek fetüse bulaştığı hematogen yolla gerçekleşmektedir. SARS-CoV-2 ile enfekte 38 gebede yapılan bir çalışmada SARS-CoV-2'nin enfekte hamile kadınlardan fetüslerine intrauterin veya transplasental yolla geçtiğine dair hiçbir kanı bulunamamıştır (Schwartz, D. A. 2020). Ancak birkaç çalışmada nadir de olsa vertikal bulaşın mümkün olabileceği gösterilmiştir (Vivanti, A. J. ve ark. 2020, Kotlyar, A. ve ark. 2020). Çin'de, SARS-CoV-2 ile enfekte annelerden doğan ve doğumdan hemen sonra annelerinden izole edilen SARS-CoV-2

immünoglobülin M (IgM) antikorlarının yenidoğanlarda da saptandığı rapor edilmiştir. IgM plasentayı geçemediğinden yenidoğanlarda saptanan bu antikorun intrauterin bulaştan dolayı oluşabileceği düşünülmektedir (Zeng, H. ve ark. 2020). Yine de yenidoğan efeksiyonlarının büyük bir kısmının intauterin yolla olmayıp doğum sonrası bebeğin solunum yolu damlacıklarına maruz kalması sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Kotlyar, A. ve ark. 2020). Yenidoğan infeksiyonlarının eğer eşlik eden ek bir sorunu yoksa zamanında doğan bebeklerde büyük oranda asemptomatik veya oldukça hafif bir şekilde seyrettiği gözlemlenmektedir (Huntley, B. J. ve ark. 2020).

SARS-CoV-2 kanda tespit edilebilmesine rağmen, kan naklinin virüs bulaştırıcılığı açısından güvenli olduğu kabul edilmektedir (Anonim, 2020).

2.5 Bulaştırıcılık

Covid-19 yayılmasında en sık kaynağın semptomatik kişiler olduğu belirlense de hastalığın asemptomatik döneminde bulunan bireylerin de oldukça yüksek oranlarda virüs bulaştırdığı bilinmektedir (Casella, M. ve ark. 2020).

Yapılan bir çalışma SARS-CoV-2'nin en fazla bulaştığı dönemin hastalığın çok erken aşamalarında hatta semptomlar başlamadan önce olduğunu ve hastalık ilerledikçe bulaştırıcılığın azaldığını göstermiştir (Marzi A, ve ark. 2004). Çoğu hastalarda semptomlar ortaya çıkmadan viral yük artma eğilimindeyken, semptomlar başladıktan sonra viral yük azalma eğilimine girmektedir. Bu durum presemptomatik dönemdeki bulaştırıcılığın açıklanmasında önemli bir yere sahiptir (Lavezzo, E. ve ark. 2020, He, X. ve ark. 2020). Yapılan bir çalışmada belirti vermeyen SARS-CoV-2 pozitif hasta sayısının %40'tan daha fazla olması (Li Q, ve ark. 2020), asemptomatik bireylerin hastalığı yaymada oldukça önemli olduğunu göstermektedir (Casella, M. ve ark. 2020).

Sonuçta hastalığı kontrol altına alabilmek sadece semptomatik bireylerin değil, herkesin izolasyon kurallarına uymasıyla mümkündür (Cascella, M. ve ark. 2020).

2.6 Hastalık Belirtileri

Hastalık belirtileri üst solunum yolu bulgularından, hipoksik pnömoni tablosu arasında geniş bir spektruma sahiptir. Covid-19'un başlangıç döneminde en sık görülen semptomlar ateş, öksürük ve yorgunluktur. Göğüste sıkışma hissi ve nefes darlığı şiddetli tutulumlarda ortaya çıkmaktadır (Carlos WG, ve ark. 2020).

Koku ve tat duyusundaki değişiklikler de atipik belirtiler arasındadır (Giacomelli A, ve ark. 2020). Gastrointestinal sistem ile ilişkili semptomlar bir diğer atipik prezentasyondur. Bulantı, kusma ve ishal ile başvuran hastalar tespit edilmiştir (Goyal P, ve ark. 2020, Jin X, ve ark. 2020).

Atipik semptomlardan bir diğeri de konjonktivitdir. Yayımlanan tedaviye dirençli bir konjonktivit vakasında oküler sıvıdan örnekleme yapılmış ve viral RNA saptanmıştır. (Colavita F, ve ark. 2020).

2.7 Klinik Örneklerin Alınması ve Taşınması

Alınacak örnek solunum yolu numunesidir. Uygun yerden (nazofaringeal ve orofaringeal sürüntü/yıkama örnekleri), uygun zamanda alınmalıdır. Uygun aletlerle (dacron veya polyester uçlu eküvyon) doğru şekilde alınarak uygun şartlarda laboratuvara iletilmesi çok önemlidir (Anonim, 2020). PCR'ı inhibe etmelerinden dolayı tahta saplı, kalsiyum alginat veya pamuk uçlu eküvyonlar kullanılmamalıdır. Viral transport içinde numune laboratuara gönderilmelidir (Anonim 2020, Loeffelholz MJ, Tang YW. 2020). Alt solunum yolu örnekleri (endotrakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj) alınacaksa yüksek aerosolizasyon riskinden dolayı infeksiyon önleme ve kontrol stratejilerine kesinlikle uyulmalıdır.

Yapılan çalışmalarda viral RNA varlığı, solunum yolu örnekleri dışındaki örneklerde RT-PCR testlerinin güvenilirliğinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir (Yan Y, ve ark. 2020, Wang W, ve ark. 2020, Wölfel R, ve ark. 2020).

Hümöral bağışıklığı saptamada klinik örneklerin alındığı zaman önemlidir. Bu süreç semptomlar başladıktan en az bir hafta sonra alınan kan örnekleri uygun kabul edilmektedir. Daha erken yapılan testler yalancı negatifliğe sebep olabilir. Doğru şekilde alınmayan ve uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılmayan numunelerde yapılan çalışmalar yanlış negatif olarak değerlendirilebilir. Soğuk zincir içinde laboratuvara ulaştırılan solunum yolu örnekleri laboratuvarında çalışma en fazla beş gün içinde tamamlanmalıdır. Bu süre zarfında numune 2-8°C'de saklanmalıdır. Numunelerin naklinde beş günden fazla gecikme olması durumunda -70°C'de dondurulmalı ve kuru buz üzerinde nakledilmelidir. Tekrarlayan dondurma ve çözme işlemlerinden sakınılmalıdır.

2.8. Tanı Testleri

Covid-19 hastalığı etkeninin hızlı ve doğru tanımlanması alınacak önlemlerin uygulanacak tedavilerin düzenlenmesi açısından önemlidir.

SARS-CoV-2 enfeksiyonların tanısında, virüs kültürü, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Virüs kültürü altın standart kabul edilmesine karşın, biyogüvenlik riski nedeniyle SARS-CoV-2 enfeksiyonunun rutin mikrobiyolojik tanısında önerilmemektedir (Anonim, 2020).

Covid-19 hastalığının güvenilir tanımı, RT-PCR yöntemi kullanılarak viral RNA varlığının gösterilmesiyle konulmaktadır (Anonim 2020, Caruana G, ve ark. 2020).

Serolojik testlerin duyarlılığı ve özgüllüğünün nükleik asit amplifikasyon testlerine göre düşük olması nedeniyle rutin tanıda kullanılması önerilmemektedir.

Ancak serum örneklerinde IgA, IgM, ve IgG'nin serolojik yöntemlerle araştırılması, PCR negatif şüpheli vakaların desteklenmesine katkı sağlayabilir (Anonim 2020, Hanson KE, ve ark. 2020).

2.8.1. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)

Covid-19 vakalarının kesin tanısında, hastaların karantinadan çıkarılması kararının verilmesinde nükleik asit amplifikasyon yöntemi olan RT-PCR testi kullanılmaktadır. RT-PCR yönteminde kullanılan kitler salgında ortaya çıkan yeni varyantların (İngiltere, Güney Afrika, mutasyonlar vb.) tanımlanmasına sürekli güncellenmektedir.

Üretilen çeşitli RT-PCR kitleri ile SARS-CoV-2 nin farklı gen bölgeleri tespit edilebilmektedir. Bu bölgeler genellikle RdRp, ORF1a/b, S, N ve E genlerini hedeflenmektedir. En az iki farklı gen bölgesinin araştırılması tanıda önemlidir (Tang YW, ve ark. 2020). Araştırılan genom segmentlerinin yanısıra, spesifik primer ve prob'un seçimi, döngü sayısı ve bağlanma ısılarının belirlenmesi de tanısal performans açısından gereklidir.

RT-PCR kapalı bir sistemdir. Cihaz içinde hedef nükleik asidi çoğaltırken aynı anda analiz işlemini de eş zamanlı olarak yapabilmektedir. Bu sistem amplifikasyon ürününün kontaminasyonunu ve yanlış pozitif sonuçları en aza indirmektedir (Tang YW, ve ark. 2020).

RT-PCR analiz süresi, ortalama 3 saattir. Uzman ve eğitimli laborant, özel cihazlar ve biyogüvenlik seviyesi-2 (BSL-2) olan laboratuvar gerekir. Numuneden viral RNA ekstrakte edilip, saflaştırılır. Viral RNA'dan ters transkriptaz (RdRp enzimi) ile

komplementer DNA elde edilir. Spesifik primerler ile komplementer DNA'daki araştırılan gen bölgesi çoğaltılır (Jayamohan H, ve ark. 2021).

Çeşitli floresan boya larla (HEX,FAM, ROX, Cy5 vb.) işaretli prob lar araştırılan gen bölgelerine bağlanırlar. Sonuçta amplifikasyon ile artan floresan sinyaller PCR cihazı tarafından değerlendirilir. İnternal kontrolün çalışmaması numunenin iyi alınmadığını gösterir ve yeni bir numune ile test tekrar edilmelidir (Yan Y, ve ark. 2020). Test sonucunda sigmoidal bir amplifikasyon eğrisi oluşması ve sinyalin başladığındaki döngü sayısı; cycle threshold; (Ct) değerinin, cut-off Ct değerinden küçük (veya eşit) olması pozitif tanı için gereklidir (Sethuraman N, ve ark. 2020).

Solunum yolu numunelerinde viral RNA'nın gösterilmesi çalışmalarında sensitivite ve spesifisitesi yüksek kit ve cihazda çalışılmasının yanında uzmanlaşmış personelin kullanılması da önemlidir.

Numunelerin uygunsuz veya yetersiz miktarda alınması, hastalığın erken veya çok geç döneminde numunenin alınması, örneğin uygun şartlarda ve uygun sürede laboratuvara gönderilmemiş olması, PCR inhibitörlerinin varlığı, test sonuçlarının yalancı negatifliğine sebep olmaktadır. Ayrıca gen bölgesindeki mutasyonlarda negatif RT-PCR sonucuna neden olabilmektedir. Bu durumlarda yeni numuneler alınarak test tekrarlanmalıdır (Anonim 2020, Jayamohan H, ve ark. 2021, Kucirka LM, ve ark. 2020, Patel R, ve ark. 2020, Surkova E, ve ark. 2020).

Altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilen RT-PCR testi replike olan ve olmayan viral RNA'nın varlığını gösterir (Sethuraman N, ve ark. 2020).

RT-PCR dışında, henüz kullanıma girmemiş olan Reverse Transcription-Loop Mediated İsothermal Amplification (RT-LAMP) ve Clustered Regularly Interspersed

Short Palindromic Repeats; (CRISPR) sistemi gibi moleküler yöntemler geliştirilmiştir (Jayamohan H, ve ark. 2021, Huang WE, ve ark. 2020, Broughton JP, ve ark. 2020).

2.8.2. Sekans Analizi

Mutasyonların ve kaynağın tespitinde, ayrıca şüpheli pozitif vakaların tanısında sekans analizi çok önemlidir. Pahalı olması, uzman kişi ve donanımlı laboratuvar gerektirmesi nedeni ile Covid-19'ın rutin tanısında kullanılacak bir yöntem değildir. Sekans analizi yapabilen laboratuvarların elde ettikleri sekans verilerini GenBank, GISAID, EMBL-EBI gibi ilgili platformlarda paylaşmaları DSÖ tarafından önermektedir (Anonim 2020 , Tang YW, ve ark. 2020, Jayamohan H, ve ark. 2021, Patel R, ve ark. 2020).

2.8.3. Antijen Testleri

Virüsün nükleokapsidine karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılır. Örnek solunum yolundan alınır. İmmünokromatografik yöntemle çalışılan testlerdir. Ucuz ve kolay uygulanırlar. Sensitivite ve spesifitesi düşük testlerdir. PCR yapılamayan, hızlı ön tanı gerektiren durumlarda kullanılabilirler. Düşük viral yük içeren örneklerde yanlış negatif sonuç alınabilir (Peeling RW, ve ark. 2021, Anonim 2020, Diao B, ve ark. 2020). Test yanlış pozitif sonuç verebilir (çapraz reaksiyon) (Anonim, 2021).

2.8.4. Antikor Testleri

Covid-19 hastaların serumlarında oluşan immünglobülinlerin tanımlanmasında kullanılan testlerdir (IgA, IgM, IgG). Bu testler ELISA (Enzyme-linked immunosorbent

assay) gibi serolojik testlerdir. Antikorları saptayan testlerin tanımlanmasında kullanılan antijenler spesifik yapıda immünojenler olmalıdır (Yan Y, ve ark. 2020).

Saptanan antikorların özelliği hastalığa karşı oluşan hümöral yanıtı gösterir. Hümöral yanıtın oluşması için ortalama 10 gün süre gerekmektedir. Dolayısı ile bu süreçten sonra antikor testleri yapılmalıdır (Patel R, ve ark. 2020). Önce IgA ve IgM, sonra IgG tipi antikorlar oluşur. Serumda en uzun süre IgG kalır (Azkur AK, ve ark. 2020).

RF veya otoantikorları pozitif olan kişilerin serumlarının değerlendirilmesinde IgM yalancı pozitif olabilir.

Aktif bağışıklıkta oluşan IgG nin yeterli koruyuculuğu olup olmadığı bilinmemektedir. IgG'nin serumdaki süresi, nötralizan özellik taşıması iyice araştırılmalıdır (Azkur AK, ve ark. 2020, Chen M, ve ark. 2021, Qu J, ve ark. 2020).

Spike proteinlerine karşı oluşan immüglobülinlerin daha spesifik, nüklekapsid proteinlerine karşı oluşan antikorların ise daha sensitif olduğu bildirilmektedir (Zhong L, ve ark. 2020).

Koronavirüslerin N proteinleri birbirine çok benzerdir. Bu nedenle bunlarda daha fazla çapraz reaksiyon görülür. Bu testlerin kullanımı kolaydır. Kısa zamanda sonuçlanır. Sensivite ve spesifiteleri PCR'dan düşüktür. Serumda yapılan çalışmalarda immüglobülin G daha güvenilirdir (Li Z, ve ark. 2020).

ELISA güvenilir sonuç verirken, kart test sensitivite ve spesifitesi daha düşüktür.

Sonuçta antikor testleri;

Toplumun immün seviyesinin ortaya konulmasında.

Aşının etkinliğinin değerlendirilmesinde.

Plazmadaki IgG yeterliliğinin saptanmasında.

Şüpheli PCR testlerin desteklenmesinde kullanılmaktadır.

2.9.SARS-CoV-2'ye Karşı Bağışıklık Yanıtı

SARS-Cov-2 infeksiyonlarında görülen bağışıklık hümmoral ve hüreseldir. Hümmoral (salgısal) bağışıklıkta B-lenfositlerin oluşturduğu immünglobülinler (IgA, IgM, IgG) röl oynar. Önce IgA ve IgM oluşur. Daha sonra IgG oluşur. En geç IgG kaybolur (Ni L, ark. 2020, Ibarrrondo FJ, ve ark. 2020, Long QX, ve ark. 2020). Hastalığı geçirmiş veya 2-3 kez aşılannışlarda oluşan antikorların insanları uzun süre korumadığı tekrarlayan infeksiyonların görülmesi ile anlaşılmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda tekrarlayan infeksiyonlara yeni mutant suşların sebep olduğu görülmüştür.

Hüresel bağışıkta T-lenfositler ve saldığı sitokinlerin etkileri röl oynamaktadır. Özellikle T-helper ve T-sitotoksik lenfositler ön plandadır. Sitokin fırtınasında CD+8 T-lenfositlerin rol oynadığı gözlenmiştir.

2.10. Covid-19 Aşıları

Viral solunum yolu hastalıklarının önlenmesinde alınan önlemler içersinde maske-mesafe-temizlik ve havalandırma önemli olmasına karşın, gelişen pandemilerin önlenmesinde yeterli olamamaktadırlar. Bu durumlarda etkene karşı aşı ön plana çıkmaktadır.

SARS-CoV-2 aşılarının büyük çoğunluğunun antijenik hedefi S (spike) glikoproteinidir (Dong Y, ve ark. 2020). Virüsün immünojen özellik taşıyan kısımları kullanılarak çeşitli aşılar üretilmiştir.

İnaktif virüs aşıları ve atenüe canlı virüs aşılar yanında DNA ve mRNA aşıları da kullanıma girmiştir. Ayrıca viral vektör aşıları ve alt ünite ve virüs benzeri parçacıklar üzerine çalışmalar sürdürülmektedir.

2.11. İstatistik Değerlendirme

Bulguların istatistiksel analizi Chi-kare testi ile yapıldı. Sonuçta $p < 0,05$ saptanmış olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. MATERYAL METOD

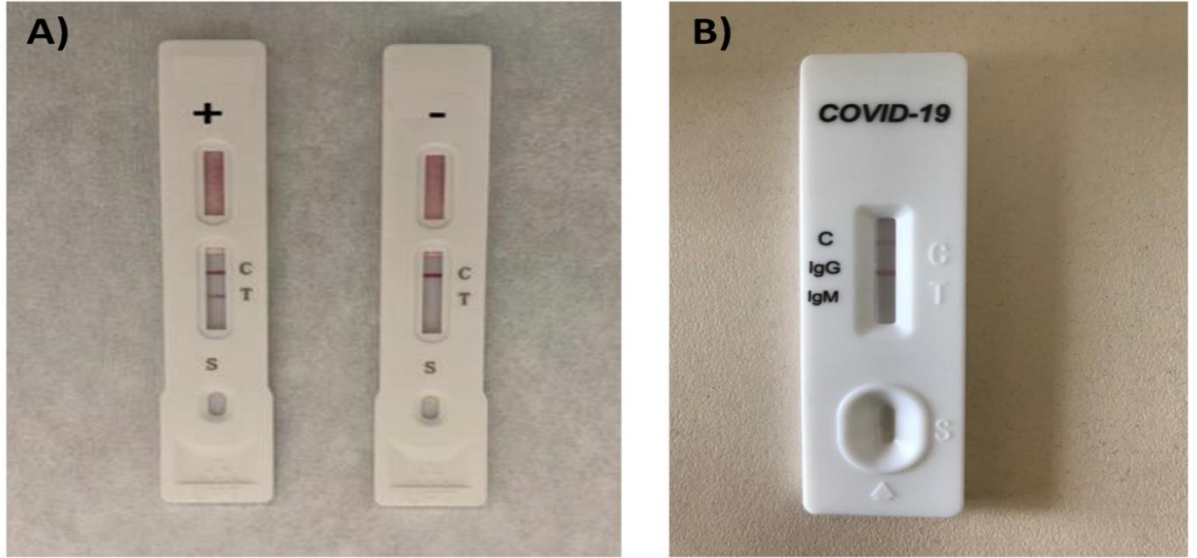
3.1. Hızlı tanı testi ile antikor tespiti

28 Mart 2020 – 12 Ekim 2020 tarihleri arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 1065 Covid-19 şüpheli hasta serumunda Covid-19 (SARS-CoV-2) IgG/IgM Antikor Test Kit (Anhui Deepblue Medical Technology Co., Ltd, Hefei, Çin) kullanılarak Covid-19 antikor varlığı değerlendirildi

- a) Test numune kuyucuğuna önce 10 mikrolite hasta serumu eklendi. Aynı yere 1 damla örnek sulandırıcı damlatıldı.
- b) 10 dakika bekletildi ve sonuçlar değerlendirildi.
- c) Kontrol şeridinde çizgi oluşmayan testler geçersiz kabul edilerek çalışmadan çıkarıldı.
- d) Test şeridinde çizgi oluşması total antikor pozitifliği olarak değerlendirildi.

Testte kullanılan kart ile pozitif ve negatif hastalara ait örnek görünüm Şekil 4A'da gösterilmiştir.

Total antikor pozitif olan numunelere Covid-19 test kiti ile IgM, IgG yönünden değerlendirildi. Şekil 4 B’da gösterilmiştir.



Şekil 4. A) İmmunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 total antikorun pozitifliğinin gösterilmesi

Şekil 4. B) İmmunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 IgM, IgG tanı testinde, IgM (-), IgG (+) antikor varlığının gösterilmesi

Kontrol ve total antikor çizgisinde tutulum olduğu için pozitif,

Sadece kontrol çizgisinde tutulum olduğu için negatif olarak değerlendirildi.

3.2. Aşılamalar sonucu oluşan immün yanıtın ELISA ile tanımlanması

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi aşı polikliniğine başvuran Covid-19 hastalığı geçirmemiş (PCR-) 50’şer kişilik iki gruba aşılamaya yapıldı. 50 kişilik birinci gruba ilk doz 14 Ocak 2021, 2. doz 14 Şubat 2021 ve 3. doz (hatırlatma) olarak 14 Nisan 2021 tarihleri arasında Sinovac aşı uygulandı. 50 kişilik ikinci grubun 32’sine (4’ü PCR(+)) Covid-19 hastalığına yakalanması, 14’ü ise 3. doz

olarak BioNTech olmadan vazgeçmesi nedeni ile çalışmadan çıkartıldı) aynı tarihlerde ilk iki aşı Sinovac ve üçüncü aşı (hatırlatma dozu) olarak BioNTech uygulandı. Oluşan immün yanıt her aşılardan yaklaşık 28 gün sonra SARS-CoV-2 IgG II Quant Test kullanarak değerlendirildi.

Çalışmalar için kan örnekleri rutin tüplere alındı. Kan örneklerinin oda ısısında pıhtılaşması sonrası 1500g'de santrifüj edip serum örnekleri ayrıldı. Örnekler çalışılincaya kadar -80C°de saklandı. Çalışma iyice çözülen, oda ısısına getirilen serum örneklerinde yapıldı. Bütün örnekler Chemiluminescent microparticle immunoassay yöntemi ile Architect cihazında (Abbott, İrlanda) çalışıldı. Elde edilen sonuçlar cut off indeksi < 50,0 AU/ml negatif, ≥50,0 AU/ml pozitif şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

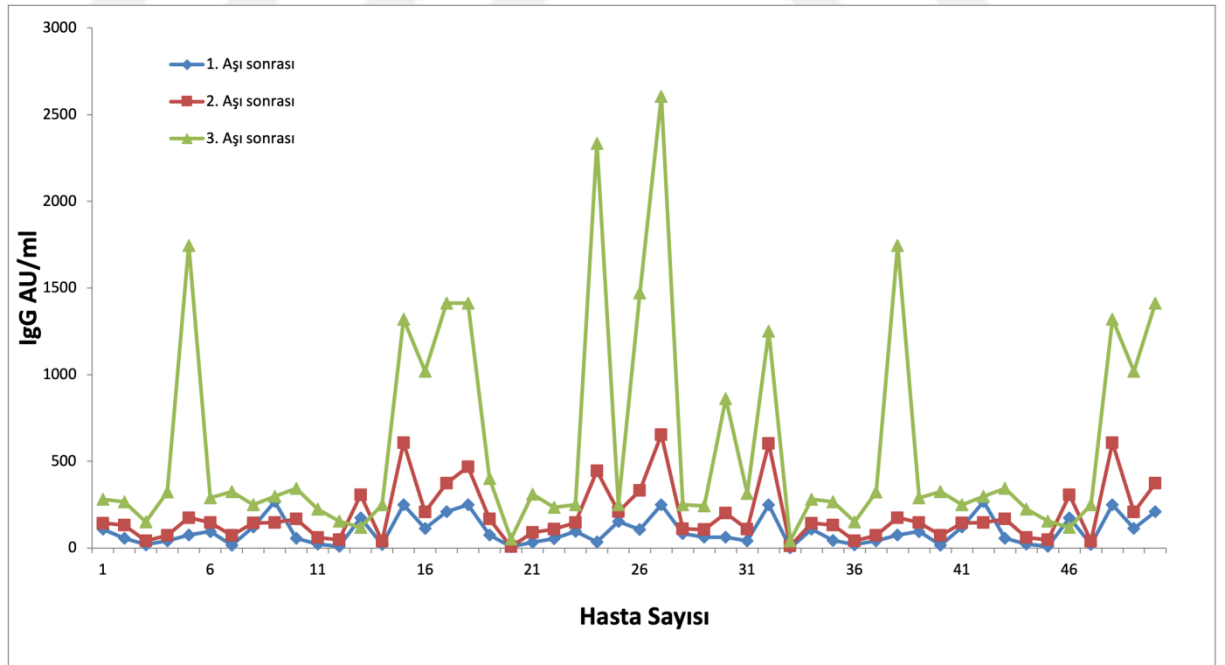
Covid-19 ön tanıli 1065 hastada Covid-19 antikorları araştırıldı. 124 (%11) total antikor pozitif = 46: IgM, 36: IgG, 42: IgM+IgG.

Tablo 1. Covid-19 şüpheli (n=1065) hastaların Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor testi(Colloidal) ile antikor varlığının değerlendirilmesi.

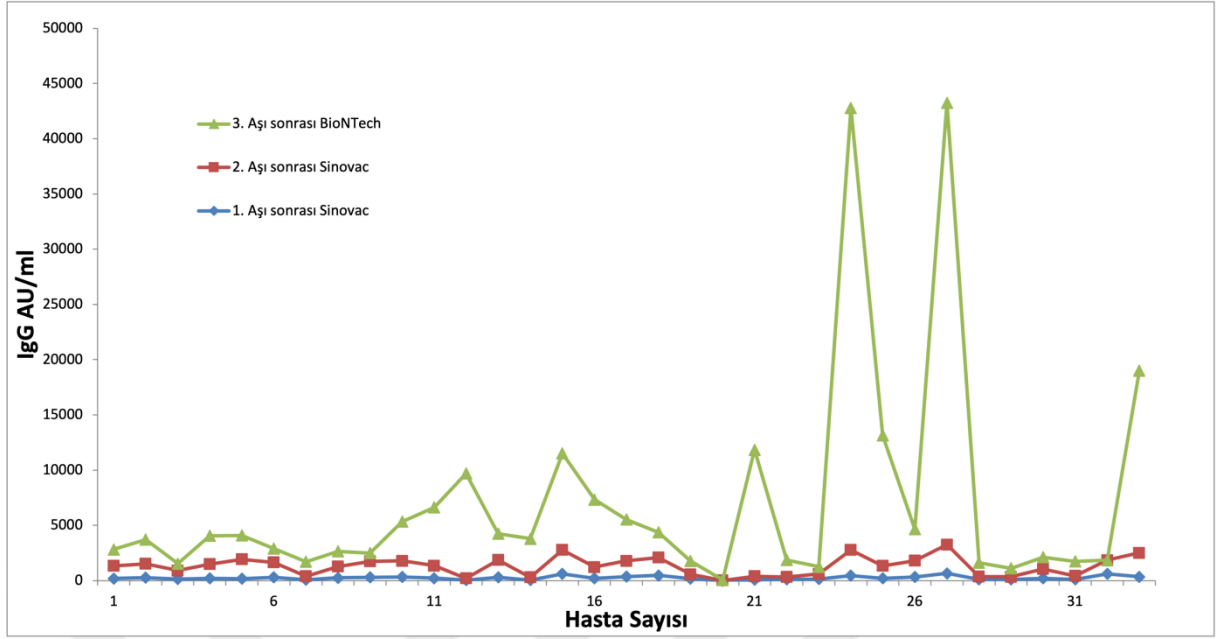
	Ig M (%)	IgM + IgG (%)	IgG (%)
Pozitif	46 (4.3)	42 (4)	36(4)
Negatif	1019. (95.7)	1023. (96)	1029. (96.6)

Tablo 2. Covid-19 hastalığı geçiren (PCR pozitif n=50) bireylerde yaklaşık 28 gün sonraki antikor varlığının üç farklı test ile değerlendirilmesi

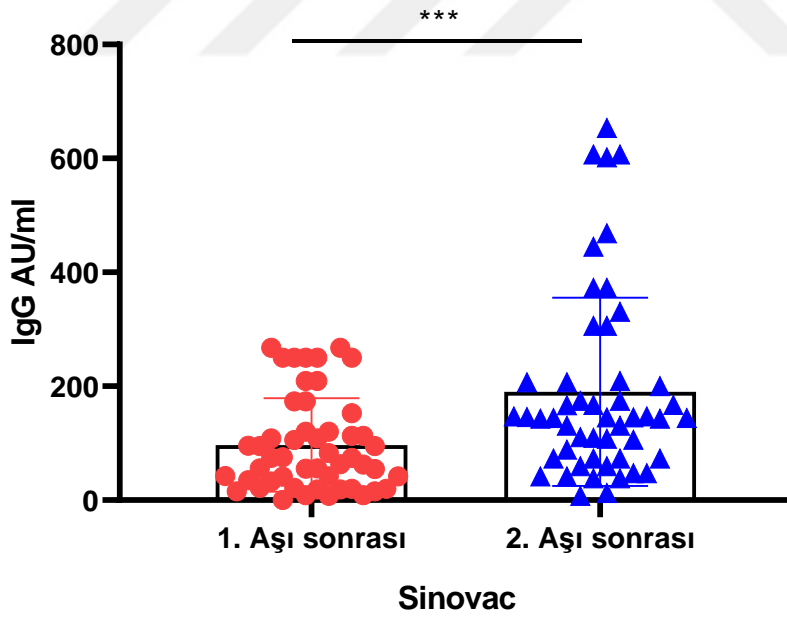
Testler	Pozitif (%)	Negatif (%)
Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor test (Colloidal)	39 (78)	11 (22)
Elecsys Anti-SARS-CoV-2 Test	41 (82)	9 (18)
SARS-CoV-2 IgG II Quant Test	43 (86)	7 (14)



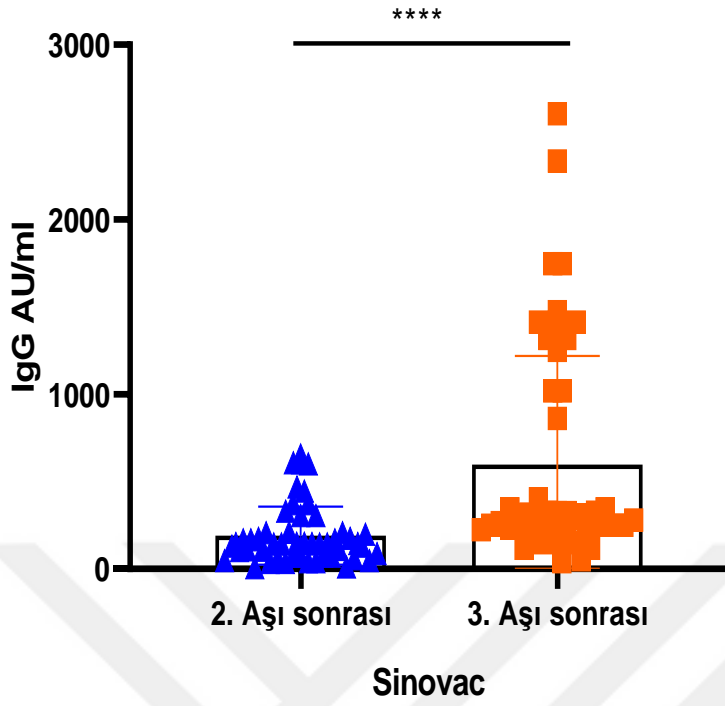
Şekil 5. İlk üç aşı Sinovac



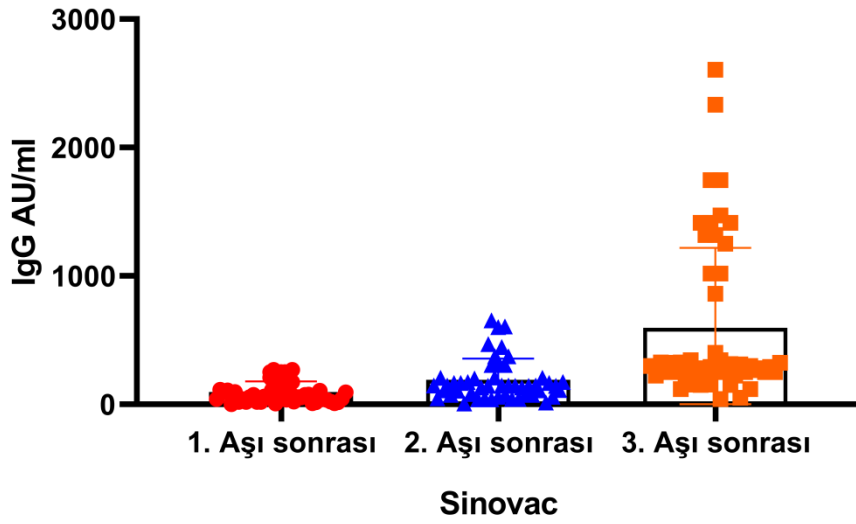
Şekil 6. İlk iki aşı Sinovac, üçüncü aşı BionTech



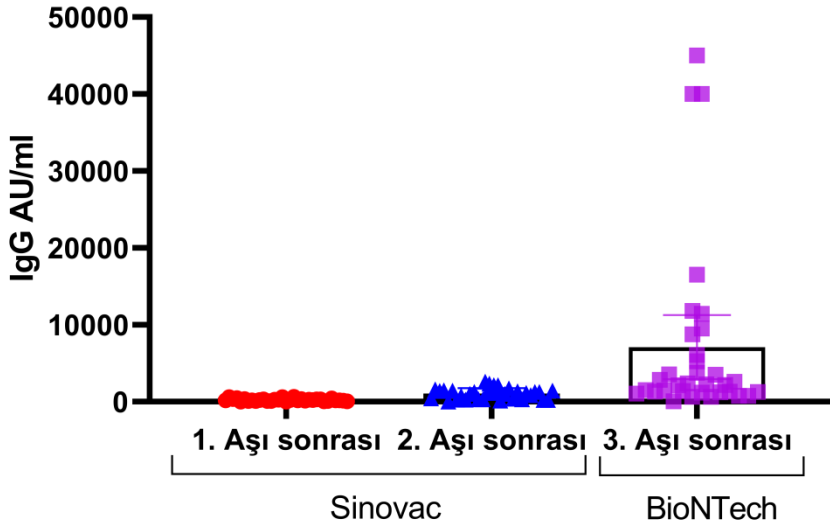
Şekil 7. Birinci ve ikinci aşı sonrası antikor titelerinin karşılaştırılması *** $p < 0,0001$



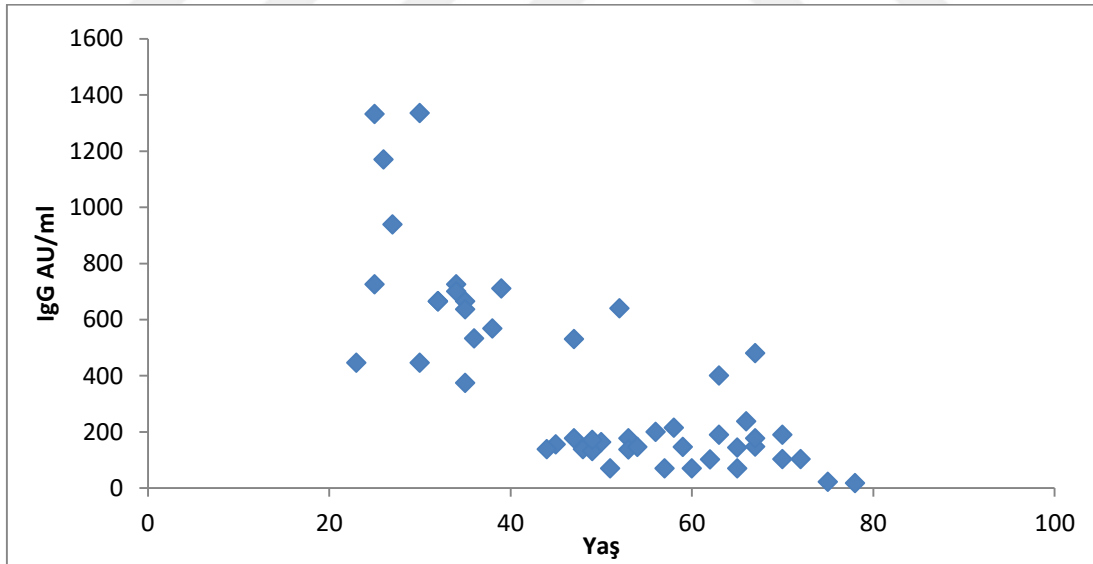
Şekil8. İkinci ve üçüncü aşı sonrası antikor titelerinin karşılaştırılması $p < 0,0001$.



Şekil 9. Birinci, İkinci ve üçüncü Sinovac aşı sonrası antikor titrelerinin karşılaştırılması $p < 0,0001$.



Şekil 10. Birinci- ikinci Sinovac, üçüncü BioNTech aşı sonrası antikor titrelerinin karşılaştırılması $p < 0,0001$.



Şekil 11. Üç Sinovac aşı antikor titre ortalamasının yaşa göre dağılımı.

Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir.

5. TARTIŞMA

SARS-CoV-2'nin sebep olduğu Covid-19, mutasyona uğrayan suşları ile dünyada hızla yayılması, şiddetli ve ölümcül ilerlemesi nedeniyle insanlık için küresel bir tehdit oluşturmaktadır. Pandemiye neden olan Covid-19'un önlenmesinde maske, mesafe ve hijyenin yanında aşı bağışıklaması hayati önem taşımaktadır. Çalışanların Covid-19 hastalığına karşı korunmaları, hizmetlerini etkin sürdürebilmelerinde çok önemlidir. Bu anlamda aşılama ile kazanılan hümöral yanıtın izlenmesinde ve seroprevalansın belirlenmesinde kapsamlı serolojik testler ön plana çıkmaktadır. Antikor tespiti Covid-19'ın tanımında kullanılabileceği bildirilmektedir (Vural, S. ve ark. 2021). Özellikle IgM akut tabloyu gösterirken, IgG virüse maruz kalındığını ve bağışıklığı gösterir. IgG'nin hümöral bağışıklıkta serum düzeyi, serumda kalış süresinin yanında nötralizan özelliğini taşıması da önemlidir.

Çalışmamız hastalığı geçirenlerdeki ve aşı ile hümöral bağışıklığı kazananlardaki antikor titrelerinin değerlendirilmesini kapsamaktadır.

Bu çalışmanın birinci aşamasında; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma Hastanesi Pandemi Polikliniğine başvuran Covid-19 ön tanılı 1065 kişinin serumunda immunokromatografik yöntem ile SARS-CoV-2 antikorlarına bakıldı. %11,5 pozitiflik saptandı. Antikor pozitif saptanan vakaların %71'i (IgM, IgM+IgG) akut enfeksiyonu gösterirken, %19'u (IgG) geçirmiş enfeksiyonu göstermektedir (Tablo 1). Ayrıca Covid-19 hastalığı geçiren (PCR+) bireylerin antikor varlığı Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor test (Colloidal), Elecsys Anti-SARS-CoV-2 test ve SARS-CoV-2 IgG II Quant test ile değerlendirildi. Duyarlılığı en fazla SARS-CoV-2 IgGII Quant test ile tespit edilirken, en az da Covid-19 (SARS-CoV-2) Antikor test (Colloidal) ile saptandı (Tablo 2).

Çalışmanın ikinci aşaması; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma hastanesi aşı polikliniğine başvuran Covid-19 hastalığı geçirmemiş (PCR-) kişilere yapılan aşılamanın (birinci grup üç Sinovac aşı/ ikinci grup iki Sinovac aşı ve bir BioNTech aşı) sonucunda gelişen immün yanıt (IgG) SARS-CoV-2 IgG II Quant Test (Abbott-İrlanda) kullanılarak değerlendirildi. Birinci grup 50 kişi/ikinci grup 32 kişi. Birinci gruba uygulanan birinci, ikinci ve üçüncü Sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titreleri karşılaştırıldı (Şekil 1). Bu karşılaştırmalar sonucunda ikinci aşı sonrası saptanan titre birinci ile (Şekil 3), üçüncü aşı sonrası saptanan titre ikinci ile (Şekil 4) anlamlı seviyede artış göstermekteydi $P < 0,05$.

İkinci grupta 18 kişi çalışmadan çıkartılarak (4 kişide Covid-19 reenfeksiyonu görülmesi, 14 kişide BioNTech aşı olmaktan vazgeçmesi) 32 kişide çalışıldı.

Çalışmamızda ikinci doz Sinovac aşı olmuş 4 kişinin tekrar hastalanması Lee J S ve ark. çalışmaları ile uyumlu olduğu görülmektedir (Lee JS, ve ark. 2020). Bu durum, SARS-CoV-2 ile re-infeksiyonda oluşan antikörlerin azalmasına bağlanabileceği gibi, farklı varyant virüslerle karşılaşmış olması da muhtemeldir. Bu durum Carillo ve ark. çalışmalarına paralel olarak aşılarda etkisinin uzun süreli olamayacağı bir işareti olarak kabul edilebilir (Carillo J, ve ark. 2020).

İkinci gruba uygulanan birinci Sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titresi, ikinci Sinovac aşı sonrası ölçülen IgG titresi ve üçüncü BioNTech aşı (hatırlatma dozu) sonrası ölçülen IgG titresi ile karşılaştırıldı (Şekil 2). Sonuçta ikinci aşı sonrası saptanan titre artışı birinci aşı sonrası saptanan titre artışı ile üçüncü aşı sonrası saptanan titre artışı ikinci aşı sonrası saptanan titre artışı ile anlamlı seviyede artış göstermektedir $P < 0,0001$ (Şekil 2). Burada üçüncü hatırlatma dozu olarak uygulanan BioNTech aşı sonrası

saptanan antikor titre artışı birinci grupta uygulanan hatırlatma (Sinovac) dozunda saptanan titre artışından daha fazla idi.

Çalışmamızın aşılama programına katılanlar 40 yaş altı ve üstü olmak üzere yaşa göre gruplandırıldığında, 40 yaş altı gruptaki ortalama antikor titre artışları anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır $P < 0,0001$ (Şekil 7). Bu sonuç ilgili konuda yapılan çalışmalara paralellik göstermektedir (Padoan A, ve ark. 2021, Zhang Y-J, ve ark. 2020).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Covid-19 ön tanımlı hastaların SARS-CoV-2 antikor pozitifliği %11,5 saptandı. Bunların %71'i akut enfeksiyonu gösterdi.

ELISA testlerinde duyarlılık en fazla SARS-CoV-2 IgGII Quant test ile tespit edildi

Her iki aşılama sonrası ölçülen antikor titrelerinde hafif artış gözlenirken, hatırlatma dozu olarak uygulanan üçüncü doz sonrası ölçümlerde daha yüksek düzeylerde artış tespit edildi.

Hatırlatma olarak uygulanan BioNTech aşısından elde edilen antikor artışı, Sinovac hatırlatma aşısından elde edilen antikor artışından daha fazla idi.

İlk iki Sinovac aşısı sonrasında dört kişide Covid-19 hasta tespit edildi. Hastalar muhtemelen yeni mutant suş veya etkisiz nötralizan antikor nedeniyle oluştu.

Sinovac aşısı uygulanan grupta değerlendirilen antikor titre artışları 40 yaş altı olanlarda daha yüksekti.

KAYNAK

- Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, Tao Q, Sun Z, Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*. 2020 Aug;296(2): E32-E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642. Epub 2020 Feb 26. PMID: 32101510; PMCID: PMC7233399.
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature medicine*. 2020;26(4):450-2.
- Anonim, 2021 COVID-19 Mikrobiyolojik Tanı Testlerinin Pandemiye Akılcı Kullanımı [Internet]. Ocak 2021 [Cited 30 March 2021] Available from: <https://www.klimudkoronavirus.org/wp-content/uploads/2021/02/COVID-19-MİKROBİYOLOJİK-TANI-TESTLERİNİN-PANDEMİDE-AKILCI-KULLANIMI-Klinisyen-2.pdf>
- Anonim, 2020“COVID-19 (SARS-CoV-2 ENFEKSİYONU) GENEL BİLGİLER, EPİDEMİYOLOJİ VE TANI REHBERİ” Bilimsel Danışma Kurulu Çalışması T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI-27 Kasım 2020’dan alıntı yapıldı. <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiyojivetanipdf.pdf>
- Anonim, 2021. Kurulu SBB. COVID-19 Rehberi. Genel Bilgiler, epidemiyoloji ve tanı. 2021.
- Anonim, 2020. T.C. Sağlık Bakanlığı. Covid-19 (Sars-Cov-2 Enfeksiyonu) Rehberi (Bilim Kurulu Çalışması). Ankara. 2 Nisan 2020.
- Anonim, 2020. T.C. Sağlık Bakanlığı. Yeni Koronavirüs (Covid-19). (Bilgilendirme dokümanı). Ankara. Mart-Nisan 2020.
- Anonim, 2020. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Genel Bilgiler, Epidemiyoloji ve Tanı, Bilimsel Danışma Kurulu Çalışması, Aralık 2020 (<https://covid19.saglik.gov.tr/TR66337/genel-bilgiler-epidemiyojivi-ve-tani.html>) (Erişim tarihi: Şubat 2021)
- Anonim, 2020. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Rehberi, Genel Bilgiler, Epidemiyoloji ve Tanı [Internet]. 7 Aralık 2020 [Cited 30 March 2021] Available from: <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39551/0/covid-19rehberigenelbilgilerepidemiyojivetanipdf.pdf>.
- Anonim, 2020. Organization WH. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report–84 2020 [Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situationreports/20200413-sitrep-84-covid-19.pdf?sfvrsn=44f511ab_2.21

- Anonim, 2020. Sanità ISd. Characteristics of COVID-19 patients dying in Italy 2020 [Available from: https://www.epicentro.iss.it/en/coronavirus/bollettino/Report-COVID-2019_2_april_2020.pdf].
- Anonim, 2020. Sanità ISd. Integrated surveillance of COVID-19 in Italy. 2020 [Available from: https://www.epicentro.iss.it/en/coronavirus/bollettino/Infografica_6aprile%20ENG.pdf].
- Anonim, 2020. World Health Organization, Diagnostic testing for SARSCoV-2: interim guidance. [Internet]. 11 September 2020 [Cited 30 March 2021] Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334254>.
- Anonim, 2020. World Health Organization, SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid diagnostic tests: an implementation guide [Internet]. 21 December 2020 [Cited 30 March 2021] Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017740>.
- Aziz M, Fatima R, Lee-Smith W, Assaly R. The association of low serum albumin level with severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Critical care (London, England)*. 2020;24(1):255.
- Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brügggen MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 2020;75:1564-81.
- Belouzard S, Chu VC, Whittaker GR. Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(14):5871-6.
- Broughton JP, Deng X, Yu G, Fasching CL, Servellita V, Singh J, et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol* 2020;38:870-4.
- Bulut C, Kato Y. Epidemiology of COVID-19. *Turkish journal of medical sciences*. 2020;50(Si-1):563-70.
- Carillo J, Izquierdo-Useros N, Avila-Nieto C, Pradenas E, Clotet B, Blanco J. Humoral immune responses and neutralizing antibodies against SARS-CoV-2; implications in pathogenesis and protective immunity *Biochemical and Biophysical Research Communications*, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.108> (baskıda).
- Carlos WG, Dela Cruz CS, Cao B, Pansnick S, Jamil S. Novel Wuhan (2019-nCoV) Coronavirus. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2020;201(4):P7-p8.

- Caruana G, Croxatto A, Coste AT, Opota O, Lamoth F, Jatou K, et al. Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1178-82.
- Cascella, M., Rajnik, M., Cuomo, A., Dulebohn, S. C., & Di Napoli, R. (2020). Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). Statpearls [internet].
- Cheung, K. S., Hung, I. F., Chan, P. P., Lung, K. C., Tso, E., Liu, R., ... & Leung, W. K. (2020). Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from a Hong Kong cohort: systematic review and metaanalysis. *Gastroenterology*, 159(1), 81-95.
- Chen Y, Guo Y, Pan Y, Zhao ZJ. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochemical and biophysical research communications*. 2020;525(1):135-40.
- Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of medical virology*. 2020;92(4):418-23.
- Chen M, Qin R, Jiang M, Yang Z, Wen W, Li J. Clinical applications of detecting IgG, IgM or IgA antibody for the diagnosis of COVID-19: A meta-analysis and systematic review. *Int J Infect Dis* 2021;104:415-22.
- Choy EH. Clinical significance of Janus Kinase inhibitor selectivity. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2019;58(6):953-62.
- Colavita F, Lapa D, Carletti F, Lalle E, Bordi L, Marsella P, et al. SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection. *Ann Intern Med*. 2020;173(3):242-3.
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 181-192.
- D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Diarrhea During COVID-19 Infection: Pathogenesis, Epidemiology, Prevention, and Management. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2020;18(8):1663-72.
- Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv* 2020; DOI: 10.1101/2020.03.07.20032524.
- Dong Y, Dai T, Wei Y, Zhang L, Zheng M, Zhou F. A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020;5:237.

- Fabricant J. The early history of infectious bronchitis. *Avian diseases*. 1998;42(4):648-50.
- Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol*. 2020;215:108448.
- Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). Human coronavirus: host-pathogen interaction. *Annual review of microbiology*, 73, 529-557.
- Fujimoto I, Pan J, Takizawa T, Nakanishi Y. Virus clearance through apoptosis-dependent phagocytosis of influenza A virus-infected cells by macrophages. *Journal of virology*. 2000;74(7):3399-403.
- Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020;71(15):889-90.
- Ghinai I, Woods S, Ritger KA, McPherson TD, Black SR, Sparrow L, et al. Community Transmission of SARS-CoV-2 at Two Family Gatherings - Chicago, Illinois, February-March 2020. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2020;69(15):446-50.
- Guan W-j, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-h, Ou C-q, He J-x, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(18):1708-20.
- Guo, Z. D., Wang, Z. Y., Zhang, S. F., Li, X., Li, L., Li, C., ... & Chen, W. (2020). Aerosol and surface distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in hospital wards, Wuhan, China, 2020. *Emerging infectious diseases*, 26(7), 1586.
- Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. *The New England journal of medicine*. 2020;382(24):2372-4.
- Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of pathology*. 2004;203(2):631-7.
- Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, Lee MJ, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. *Clin Infect Dis* 2020 12;ciaa1343.
- He, X., Lau, E. H., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., ... & Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature medicine*, 26(5), 672-675.

- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
- Huang WE, Lim B, Hsu CC, Xiong D, Wu W, Yu Y, et al. RTLAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Microb Biotechnol* 2020;13:950-61.
- Hogue, B. G., & Machamer, C. E. (2007). Coronavirus structural proteins and virus assembly. *Nidoviruses*, 179-200.
- Huntley, B. J., Huntley, E. S., Di Mascio, D., Chen, T., Berghella, V., & Chauhan, S. P. (2020). Rates of maternal and perinatal mortality and vertical transmission in pregnancies complicated by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection: a systematic review. *Obstetrics & Gynecology*, 136(2),303-312.
- Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliot J, Hofman C, Hausner MA et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild COVID-19. *N Engl J Med*. 2020;383:1085–87.
- Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, et al. Angiotensin converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. 2005;436(7047):112-6.
- Jayamohan H, Lambert CJ, Sant HJ, Jafek A, Patel D, Feng H. SARS-CoV-2 pandemic: a review of molecular diagnostic tools including sample collection and commercial response with associated advantages and limitations. *Anal Bioanal Chem* 2021;413:49-71.
- Jia HP, Look DC, Shi L, Hickey M, Pewe L, Netland J, et al. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *Journal of virology*. 2005;79(23):14614- 21.
- Jin X, Lian JS, Hu JH, Gao J, Zheng L, Zhang YM, et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. *Gut*. 2020;69(6):1002-9.
- Kang, M., Wei, J., Yuan, J., Guo, J., Zhang, Y., Hang, J., ... & Zhong, N. (2020). Probable evidence of fecal aerosol transmission of SARS-CoV-2 in a high-rise building. *Annals of internal medicine*, 173(12), 974-980.
- Kang Y-J. Mortality Rate of Infection With COVID-19 in Korea From the Perspective of Underlying Disease. *Disaster Med Public Health Prep*. 2020;14(3):384-6.
- Klompas, M., Baker, M. A., & Rhee, C. (2020). Airborne transmission of SARSCoV-2: theoretical considerations and available evidence. *Jama*.

- Kotlyar, A., Grechukhina, O., Chen, A., Popkhadze, S., Grimshaw, A., Tal, O., ... & Tal, R. (2020). Vertical transmission of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *American journal of obstetrics and gynecology*.
- Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med* 2020;173:262-7.
- Kumar S, Nyodu R, Maurya VK, Saxena SK. Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. 2020:23-31.
- Lavezzo, E., Franchin, E., Ciavarella, C., Cuomo-Dannenburg, G., Barzon, L., Del Vecchio, C., ... & Crisanti, A. (2020). Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'. *Nature*, 584(7821), 425-429.
- Lazzerini M, Putoto G. COVID-19 in Italy: momentous decisions and many uncertainties. *The Lancet Global Health*. 2020;8(5):e641-e2.
- Lee JS, Kim SY, Kin TS, Hong KH, Ryoo NH, Lee J et al. Evidence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Reinfection After Recovery from Mild Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020 Nov 21;ciaa1421 (baskida).
- Li, D., Jin, M., Bao, P., Zhao, W., & Zhang, S. (2020). Clinical characteristics and results of semen tests among men with coronavirus disease 2019. *JAMA networkopen*, 3(5), e208292-e208292.
- Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual review of virology*. 2016;3(1):237-61
- Li M, Zhao L, Zhang C, Wang X, Hong W, Sun J, et al. Dengue immune sera enhance Zika virus infection in human peripheral blood monocytes through Fc gamma receptors. *PloS one*. 2018;13(7):e0200478.
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020;92:1518-24.
- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(13):1199-207.
- Liu, Y., Ning, Z., Chen, Y., Guo, M., Liu, Y., Gali, N. K., ... & Lan, K. (2020). Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature*, 582(7813), 557-560.
- Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:747-56.

- Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2020;26:1200–04.
- Marzi A, Gramberg T, Simmons G, Möller P, Rennekamp AJ, Krumbiegel M, et al. DC-SIGN and DC-SIGNR interact with the glycoprotein of Marburg virus and the S protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of virology*. 2004;78(21):12090-5.
- Memikoğlu O, Genç V. COVID-19. Osman Memikoğlu, Volkan Genç, editors. ANKARA: Ankara Üniversitesi Basımevi; 2020. 264 p.
- Ni L, Ye F, Cheng ML, Feng Y, Deng YQ, Zhao H et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity*. 2020;52:971–77.e3
- Ong, S. W. X., Tan, Y. K., Chia, P. Y., Lee, T. H., Ng, O. T., Wong, M. S. Y., & Marimuthu, K. (2020). Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *Jama*, 323(16), 1610-1612.
- Padoan A, Dall Olmo L, Della Rocca F, et al. Antibody response to first and second dose of BNT162b2 in cohort of characterized health care workers. *Clin Chim Acta*. 2021;519:60-3.
- Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, George KS, et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio* 2020;11:e00722-20.
- Peeling RW, Olliaro PL, Boeras DI, Fongwen N. Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. *Lancet Infect Dis* 2021; (published online Feb 23).
- Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nature reviews Microbiology*. 2009;7(6):439-50.
- Qu J, Wu C, Li X, Zhang G, Jiang Z, Li X. Profile of Immunoglobulin G and IgM Antibodies Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis* 2020;71:2255-8.
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive care medicine*. 2020;46(5):846-8
- Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology journal*. 2019;16(1):69.

- Schwartz, D. A. (2020). An analysis of 38 pregnant women with COVID-19, their newborn infants, and maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2: maternal coronavirus infections and pregnancy outcomes. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 144(7), 799-805.
- Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 2020;323:2249-51.
- Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of advanced research*. 2020;24:91-8.
- Shin HS, Kim Y, Kim G, Lee JY, Jeong I, Joh JS, et al. Immune Responses to Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus During the Acute and Convalescent Phases of Human Infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2019;68(6):984-92.
- Sonmezer MC, İnkaya AÇ. COVID-19: Viroloji, Patogenez, Klinik Özellikler ve Tedavi. 2020. p. 1-8.
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C., Zhou, J., ... & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends in microbiology*, 24(6), 490-502.
- Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. *Lancet Respir Med* 2020;8:1167-8.
- Şeker, M., Özer, A., Tosun, Z., Korkut, C., & Doğrul, M. (2020). COVID-19 Küresel Salgın Değerlendirme Raporu. *Türkiye Bilimler Akademisi Yayınları, TÜBA Raporları*, (34).
- Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature reviews Immunology*. 2020;20(6):363-74.
- Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00512-20.
- Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, Druce J, Caly L, van de Sandt CE, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature medicine*. 2020;26(4):453-5.
- Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary Pathology of EarlyPhase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia in Two Patients With Lung Cancer. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2020;15(5):700-4.
- Ulrich H, Pillat MM. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem cell reviews and reports*. 2020;16(3):434-40.

- University JH. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)". ArcGIS. 2020 [Available from: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/>].
- Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., ... & Munster, V. J. (2020). Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England journal of medicine*, 382(16), 1564-1567.
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet (London, England)*. 2020;395(10234):1417-8.
- Verity R, Okell LC, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020;20(6):669-77.
- Vivanti, A. J., Vauloup-Fellous, C., Prevot, S., Zupan, V., Suffee, C., Do Cao, J., ... & De Luca, D. (2020). Transplacental transmission of SARS-CoV-2infection. *Nature communications*, 11(1), 1-7.
- Vural, S. Hacibekiroğlu, M. Yıldız, F.R. Vural P., 2021. Pandemi COVID-19 Geçirmiş ve Geçirmemiş Bir Grup Sağlık Çalışanında Aşı Sonrası Gelişen İmmünolojik Cevap. *ANKEM Derg*,35(2):45-52.
- Wan Y, Shang J, Sun S, Tai W, Chen J, Geng Q, et al. Molecular Mechanism for Antibody-Dependent Enhancement of Coronavirus Entry. *Journal of virology*. 2020;94(5).
- Wang B, Li R, Lu Z, Huang Y. Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(7):6049-57.
- Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 2020;323:1843-4
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020;581:465-9.
- Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-42.
- Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(4):420-2.

- Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Rev Med Virol* 2020;30:e2106.
- Yi Y, Lagniton PNP, Ye S, Li E, Xu RH. COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. *International journal of biological sciences*. 2020;16(10):1753-66.
- Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol*. 2020;215:108427-.
- Zaki, A. M., Van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., & Fouchier, R. A. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*, 367(19), 1814-1820.
- Zeng, H., Xu, C., Fan, J., Tang, Y., Deng, Q., Zhang, W., & Long, X. (2020). Antibodies in infants born to mothers with COVID-19 pneumonia. *Jama*, 323(18),1848-1849.
- Zhang Y-J, Zeng G, Pan H-X, et al. Immunogenicity and safety of a SARS-CoV-2 inactivated vaccine in healthy adults aged 18-59 years: report of the randomized, double-blind, and placebo-controlled phase 2 clinical trial. medRxiv 2020. (preprint). <https://doi.org/10.1101/2020.07.31.20161216>
- Zhao X, Ding Y, Du J, Fan Y. 2020 update on human coronaviruses: One health, one world. *Medicine in novel technology and devices*. 2020;8:100043.
- Zhong L, Chuan J, Gong B, Shuai P, Zhou Y, Zhang Y, et al. Detection of serum IgM and IgG for COVID-19 diagnosis. *Sci China Life Sci* 2020;63:777-80.
- Zhong, N. S., Zheng, B. J., Li, Y. M., Poon, L. L. M., Xie, Z. H., Chan, K. H., ... & Guan, Y. (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, 362(9393), 1353-1358.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020;395(10229):1054-62.
- Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-3.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England journal of medicine*. 2020;382(8):727-33